

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
СИБИРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТОРФА
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ ИМ. В.Ф. КУПРЕВИЧА

**РУКОВОДСТВО
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТОРФЯНЫХ
ПОЧВ И ТОРФОВ**

Томск, 2003

ББК 631

И 64

УДК 631.465

Руководство по определению ферментативной активности торфяных почв и торфов.

Инишева Л.И., Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. Томск: Изд-во том. ун-та, 2002. – с.

В руководстве приводятся методики определения ферментативной активности в торфяных почвах, рассмотрены отдельные методические аспекты отбора образцов и проведения ферментативной активности, изложены современные представления о ферментах, рассмотрено физико-химическое и биологическое состояние торфа, приводится характеристика ферментативной активности торфов и торфяных почв Сибири и Беларуси.

Для биологов, почвоведов, специалистов по генезису болот, а также аспирантов, студентов и научных сотрудников, занимающихся данным направлением.

Под общей редакцией члена-корреспондента РАСХН Л.И. Инишевой.

Рецензент: профессор, доктор биологических наук Н.Н. Наплёкова

ISBN 5-7511-1652-6 _

© Л.И. Инишева, С.Н. Ивлева, Т.А. Щербакова, 2003

Address for contacts: 634050, p/b 787, Tomsk, Russia

Tel.: (3822)528301, 264150 *Fax:* (3822)515093

E-mail: ltor@petrol.tomsk.ru

Inisheva L.I., Ivleva C.H., Scherbakova T.A.

Handbook for enzymatic activity determination of peat soils and peats.

Tomsk: Tomsk State University, 2002. p.

This book is the handbook concerning of peats soils and peats enzymatic activity, the description of sampling methods and preparing to analysis. The book reports the information about modern ideas of enzymes and enzymatic activity. It includes also the description of physical, chemical and biological properties of peats. The data of Siberian and Belarus peat soils, peats enzymatic activity have been first generalized and analyzed.

The book is destined for soil scientists, biologists, reclamations, agro- and geographers and specialists of adjacent scientific branches.

Оглавление

СОДЕРЖАНИЕ.....	Ошибка! Закладка не определена.
ВВЕДЕНИЕ	6
1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФЕРМЕНТАХ И ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ.....	9
2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ТОРФА.....	15
3. ОТБОР ПРОБ И ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ	20
3.1. ОТБОР ПРОБ	20
3.2. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ	21
3.2.1. МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ.....	22
3.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕТЕХНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ.....	26
4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ.....	30
4.1. ГИДРОЛАЗЫ.....	31
4.2. ПЕПТИД- И АМИДОГИДРОЛАЗЫ.....	35
4.3. ФОСФОГИДРОЛАЗЫ.....	42
4.4. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ.....	46
5. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ	66
5.1. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	66
5.2. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ БЕЛАРУСИ.....	80
6. ПЕРСПЕКТИВЫ НАПРАВЛЕНИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ.....	93
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	98
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ ПО ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ	106

CONTENTS

FOREWORD.....	5
1. MODERN CONCEPT OF ENZYMES AND ANZYMATICAL ACTIVITY.	8
2. PHYSICAL CHEMICAL AND BIOLOGICAL HROPERTIES OF PEAT.....	15
3. SAMPLING METHODS AND PREPARING FOR ANALYSIS.	20
3.1. SAMPLING METHODS.....	20
3.2. PREPARING FOR ANALYSIS.....	21
3.2.1. METHODOICAL ASPECTS OF DETERMINATION OF ENZYMATICAL ACTIVITY	22
3.3. DETERMINATION OF TECHNICAL PROPERTIES.	26
4. DETERMINATION OF PEAT SOIL AND PEAT ENZYMATICAL ACTIVITY.	30
4.1. HYDROLYZING ENZYMES.....	31
4.2. PEPTID- AND AMIDO- HYDROLYZING ENZYMES.	35
4.3. PHOSPHA-HYDROLYZING ENZYMES.	42
4.4. OXIDATION-REDUCTION ENZYMES.....	46
5. PEAT SOIL AND PEAT ANZYMATICAL ACTIVITY.....	67
5.1. PEAT SOIL AND PEAT ANZYMATICAL ACTIVITY IN WEST SIBERIA.	67
5.2. PEAT SOIL AND PEAT ANZYMATICAL ACTIVITY IN BELARUS.	81
6. PERSPECTIVES DIRECTIONS OF RESERCH OF ANZYMATICAL ACTIVITY	94
REFERENCES	99
BIBLIOGRAPHICAL INDEX LITERATURE ON PEAT SOIL ANZYMATICAL ACTIVITY.....	108

Посвящается
Тамаре Порфирьевне
Славниной – выдающемуся
Учителю, Учёному и большой души
Человеку

ВВЕДЕНИЕ

Торф является уникальным природным образованием, как по своим физико-химическим свойствам, так и по направлениям использования. С одной стороны, торфяные месторождения, как потенциально плодородные почвы используются под посевы различных сельскохозяйственных культур, с другой – на основе торфа получают более 40 видов торфяной продукции. Рациональное освоение торфяных месторождений с целью применения их в сельском хозяйстве, а также разработка новейших наукоемких технологий по комплексной переработке торфа во многом определяются результатами всесторонних научных исследований в области торфа, в том числе по физике, химии и биологии торфов. Биологические свойства играют особую роль в процессе торфообразования. Хорошо известны микробиологические методы оценки биологического состояния торфов [Зенова и др., 1991; Зименко, 1977; Зименко и др., 1983; Мишустин, 1954; и др.]. Наряду с микробиологическими методами биологическое состояние торфов и торфяных почв может быть оценено с помощью определения активности ферментов [Ивлева, 1992; Ивлева и др., 1994; Инишева, 1992; Инишева и др., 1982, 1985; Купревич, 1951; Славнина, Инишева, 1987; Купревич, Щербакова, 1966; Щербакова, 1983; Яковлев, 2000].

Выяснено, что активность ферментов является даже более устойчивым и чувствительным показателем биологической активности торфяных почв, чем активность микробиологических процессов. Трансформация органического вещества, мобилизация макро- и микроэлементов в торфяных почвах осуществляются с помощью ферментов, выделенных в данный момент как живыми организмами, так и находящимися в торфе в адсорбированном состоянии, поэтому ферментативная активность дает полное представление о биологическом состоянии торфяных почв и торфов.

Уровень и соотношение активности ферментов контролируются гидротермическими условиями природных зон, химическими, физико-химическими свойствами торфов и торфяных почв. Многие авторы, основываясь на многочисленных

работах, рассматривают активность ферментов как интегральное выражение биологических и физико-химических факторов торфяных почв и считают возможным учитывать этот фактор при изучении эволюции торфяных почв.

Для правильной оценки ферментативной активности крайне необходимы методики проведения анализов, характеризующиеся точностью, значимостью и быстротой определения.

В настоящее время известно достаточно много методических указаний по определению ферментативной активности почв. Однако они касаются в основном минеральных почв [Галстян, 1974; Хазиев, 1982, 1990] и индивидуальны как по типам почв, так и по набору используемых реактивов. Отсюда вытекают такие достаточно сложные задачи:

1) определить применимость известных методик к торфяным почвам и торфам и разработать новые с целью получения наиболее достоверной информации об их ферментативной активности;

2) провести методические разработки по «притирке» методик к конкретной ситуации. Немаловажное значение имеет и степень доступности реактивов для использования при поточном определении ферментов;

3) охарактеризовать ферментативную активность западносибирских и белорусских торфяных почв и торфов.

Такая работа была проведена двумя коллективами: СибНИИТ СО РАСХН (г. Томск) и Институтом экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси (г. Минск). Результатом этой работы явилось Руководство, которое предназначено для использования его при определении ферментативной активности торфяных почв, торфов и продукции из торфа.

В данном Руководстве приводятся методики определения активности ферментов, катализирующих гидролитический распад дисахаридов (инвертаза), окислительные процессы (каталаза, полифенолоксидаза, пероксидаза), восстановительные процессы (нитрит-, нитратредуктаза, дегидрогеназа, сульфатредуктаза, ферриредуктаза), процессы трансформации азотсодержащих (протеаза, уреаза) и фосфорсодержащих (фосфатаза) органических соединений.

Учитывая, что работ, посвященных ферментативной активности торфяных почв и торфов, немного, авторы постарались привести результаты собственных исследований, охватывая два таких разных по процессу торфообразования региона, как Беларусь и Западная Сибирь. Климат Беларуси – умеренно континентальный и переходный от

морского к континентальному, объясняется ее расположением в умеренных широтах и влиянием Атлантического океана. В литологическом составе современных отложений преобладают грунты легкого механического состава. Торфообразовательный процесс здесь захватил значительные территории (2 млн га или 10% от всех земельных ресурсов Беларуси). Торфяными образованиями покрыты, в основном, понижения, и они сосредоточены на торфяных месторождениях площадью свыше 100 га.

Климат в Западной Сибири – континентальный, современные четвертичные породы представлены лессовидными суглинками. Торфяные ресурсы Западной Сибири, в основном, располагаются на торфяных месторождениях площадью более 50 тыс. га. Процесс заболачивания прогрессирует, ежегодно захватывая до 20 тыс. га новой площади.

Уровень и соотношение активности ферментов контролируются гидротермическим режимом каждого региона, химическими, физико-химическими свойствами торфов, слагающих торфяные почвы, содержанием органического вещества, направлением торфообразовательного процесса.

В данной работе также приводится методика отбора проб торфа, их подготовка к анализу; рассматриваются методические аспекты определения ферментативной активности торфов.

И несколько слов о Тамаре Порфирьевне Славниной, кому посвящён этот труд. В Томской области первые исследования ферментативной активности были начаты на кафедре почвоведения Томского университета в 1959-1960 гг. под руководством профессора Т.П. Славниной. В лекциях по почвоведению, которые Тамара Порфирьевна на протяжении 40 лет читала студентам, особое внимание уделялось биологической составляющей почв.

Большое внимание в работе уделяется перспективам направлений исследования ферментативной активности почв вообще и торфяных в частности.

Авторы надеются, что руководство вдохновит исследователей на расширение работ по ферментативной активности почв. В большинстве случаев именно ферменты, являясь молекулярными биокинетическими системами, в конечном счете определяют круговорот вещества и энергии как на клеточном уровне, так и на уровне биосферы в целом.

Глава 4 (и частично 3) написана С.Н. Ивлевой, Т.А. Щербаковой; введение, главы 1, 2, 3, 4, 5, 6 – Л.И. Инишевой.

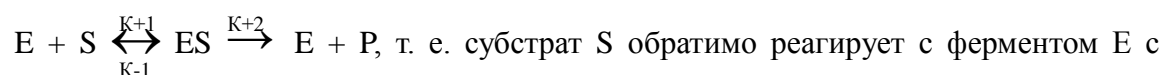
В работе использованы также материалы аспирантов О.Г. Савичевой и Е.В. Беловой, выполненные под руководством Л.И. Инишевой. Список литературы по ферментативной активности торфяных почв подготовлен О.Г. Савичевой.

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФЕРМЕНТАХ И ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

Ферменты (энзимы) – вещества белковой природы, способные в сотни раз ускорять биохимические процессы. Ферменты значительно различаются по размеру молекул: некоторые имеют небольшую молекулярную массу (10^4), но чаще их молекулярные массы находятся в пределах от $1,5 \cdot 10^4$ до $1,5 \cdot 10^6$. Эффективность ферментов высока: 1 молекула катализирует превращение $10^2 - 10^6$ молекул субстрата в 1 мин. Чаще всего ферменты специфичны в отношении типа катализируемой реакции. Например, уреаза разлагает только мочевины, полифенолоксидаза окисляет полифенолы и их производные. Однако возможна и более широкая специфичность. Известна, например, способность многих протеолитических ферментов выступать в роли катализаторов гидролиза не только пептидов, но и эфиров и тиоэфиров. Ещё одна важная особенность ферментов – при ферментативных реакциях наблюдаются лишь незначительные побочные процессы.

А.Ш. Галстяном [1974] выявлено, что для ферментативного превращения необходимы определённая пространственная ориентация и взаимодействие молекулы субстрата со всей сложной структурой активного центра молекулы фермента. Это обстоятельство объясняет действие многих ферментов как в растворах, так и на поверхностях почвенных частиц.

Ферментативную реакцию можно выразить общим уравнением [Яковлев, 1964; Березин, 1979]



образованием фермент-субстратного комплекса ES. Константы скорости реакции образования комплекса и обратного его распада соответственно равны $k+1$ и $k-1$.

Все процессы, определяющие направление и содержание эволюции почвы осуществляются энзимологическим комплексом как живого почвенного населения, так и самой почвы [Купревич, Щербакова, 1966]. Превращение и взаимодействие органических и неорганических частей, синтез и разложение органических веществ, мобилизация элементов питания растений происходят в результате сложнейших реакций, обусловленных присутствием в ней большого разнообразия катализаторов белковой природы - ферментов.

Достигнутые успехи в изучении ферментативной активности привели к возникновению нового направления в биологии почвы – почвенной энзимологии. В нашей

стране начало этому направлению было положено работами В.Ф. Купревича, который и определил основные задачи этой научной дисциплины: изучение активности, состава, происхождения почвенных ферментов, их роли в плодородии почвы.

Почвенные ферменты представляют собой смесь ферментов различного происхождения, поступающих из микроорганизмов, водорослей, лишайников, корней высших растений, почвенной мезофауны. Однако до сих пор единой точки зрения о происхождении почвенных ферментов нет. Многие исследователи [Маштаков и др., 1954; Киш, Балинт, 1959; Петерсон, 1961; Козлов, 1964; Козлов, Ньючева, 1965; Козлов, 1966; Хазиев, 1972; Берестецкий, Зубец, 1981] считают основным источником ферментов в почве микроорганизмы.

Н.А. Красильников [1952], В.Ф. Купревич [1949, 1958, 1974], В.Ф. Купревич и Т.А. Щербакова [1966] на основании экспериментальных данных показали преимущество происхождения почвенной энзимологической активности корневыми системами высших растений. Кроме микроорганизмов и высших растений определенный вклад в создание ферментативной активности вносит и почвенная фауна [Козлов, Ньючева, 1965]. В последнее время высказывается положение о том, что ферменты, находящиеся в почве вне организмов, представлены только ферментами, разлагающими органические вещества. Так, по мнению Н.Л. Радюкиной и др. [2001], в почве отсутствуют ферменты, участвующие в органическом синтезе. Так, известно, что во внутриклеточных биосинтезах различных соединений обычно участвует не один, а целый комплекс ферментов, каждый из которых осуществляет один из этапов синтеза. По мнению вышеназванных авторов, в почве невозможно существование в течение длительного времени подобных надмолекулярных структур.

Попадая из различных источников, ферменты в почвах могут находиться в течение длительного времени, что свидетельствует о наличии в ней защитных механизмов, способствующих сохранению и поддержанию их структуры [Щербакова, 1983].

Известно, что суммарная ферментативная активность складывается из следующих составляющих: а) внеклеточных иммобилизованных ферментов; б) внеклеточных свободных ферментов; в) внутриклеточных ферментов живых клеток; г) внутриклеточных ферментов мертвых клеток; д) внутриклеточных и внеклеточных ферментов,

образовавшихся в искусственных условиях эксперимента и не характерных для естественной почвы [Звягинцев, 1979].

Накопление ферментов в почве происходит, в первую очередь, за счет внеклеточных ферментов, выделенных микроорганизмами, поступивших после отмирания растений и животных, которые находятся в иммобилизованном состоянии, то есть комплексируются с почвенными компонентами - минеральной частью и гумусом [Козлов, 1966; Звягинцев, 1977; Воробьева, Звягинцев, 1978; Звягинцев, 1979; Щербакова, 1980; Ростовщикова и др., 1998].

Наши исследования [Щербакова, 1980; Щербакова и др., 1981; Щербакова, 1983] показали, что в условиях почвы более реально существование комплекса глинистый минерал - органическое вещество - фермент, в которых на долю минерального компонента приходится 18-20%, а органического - около 80%.

Среди органических компонентов почвы, с которыми комплексируются ферменты, идентифицированы полисахариды, нуклеиновые кислоты и гумусовые вещества [Галстян, 1980; Щербакова, 1980; Щербакова, 1983; Абрамян, 1992]. Наиболее эффективно связывают ферменты высококонденсированные гуминовые кислоты [Галстян, Абрамян, 1985; Масько, Галушко, 1989; Тейт, 1991; Абрамян, 1992].

Ферменты связаны с гумусовыми соединениями как ионной формой связи, так и более прочными связями, причем прочность связи зависит от самих ферментов. Так, гидролитические ферменты комплексируются с гумусом более прочно, чем окислительно-восстановительные ферменты и составляют 49-96% и 3-50% соответственно [Масько, Галушко, 1989; Масько и др., 1992].

Иммобилизованные почвой ферменты становятся стабильными катализаторами протекающих в ней биохимических процессов, которые к тому же приобретают большую устойчивость к ряду неблагоприятных условий (высокая температура, продолжительное хранение, экстремальные условия, pH, денатурирующее действие микроорганизмов) [Козлов, 1966; Алиев, Звягинцев, 1974; Звягинцев, Алиев, 1975; Воробьева, Звягинцев, 1978; Звягинцев, 1978].

Вследствие комплексного источника поступления ферментов почва самая богатая система по ферментному разнообразию и по ферментному пулу [Купревич, Щербакова, 1966; Звягинцев, 1977; Хазиев, 1982]. В настоящее время, в почвах найдено около 40 ферментов. Разнообразие и богатство ферментами делает возможным осуществление последовательных биохимических превращений поступающих в почву органических остатков.

Преобладающая часть неспецифических органических соединений поступает в почву в виде высокополимерных веществ (целлюлоза, крахмал, лигнин, нуклеиновые кислоты, белки и т.д.). Гидролитический распад этих соединений представляет собой важнейший этап процессов превращения органического вещества, предшествующий стадии окислительно-восстановительных процессов гумусообразования.

Около 80-90% органических веществ, слагающих растительный организм, составляют углеводы. Поступающие в почву и накопленные в ней углеводы подвергаются действию комплекса ферментов - амилазы, целлюлазы, ксиланазы, среди которых наиболее полно изучена инвертаза. Этот фермент расщепляет сахара или близкие к нему углеводы на молекулы глюкозы и фруктозы. В дальнейшем простые углеводы, в частности глюкоза, могут включаться в биосинтез гумусовых соединений в виде вторичных метаболитов после прохождения внутриклеточных преобразований в аминокислоту или какое-либо ароматическое соединение [Туев, 1989].

Процессы превращения азота и его соединений в почвах составляют одно из центральных звеньев почвенного метаболизма. Азоторганические соединения, поступающие в почву, претерпевают сложные биохимические превращения, в процессе которых переходят в доступные для растений формы. На каждой стадии трансформации азоторганических соединений, называемых аммонификацией, нитрификацией и денитрификацией, принимают участие гидролитические и окислительно-восстановительные ферментные системы. Начальный этап мобилизации органического азота (деполимеризация) начинается с действия протеолитических ферментов типа протеаз и нуклеаз, гидролизующих пептидные и протеиновые компоненты органического вещества до свободных аминокислот. Таким образом, протеолиз служит пусковым механизмом, включающим все последующие этапы преобразования белков.

Следующая стадия превращения образующихся аминокислот, азотистых оснований, амидов - стадия аммонификации, конечными продуктами которой являются аммиак и углекислый газ. Катализируют этот процесс амидазы, из которых наиболее

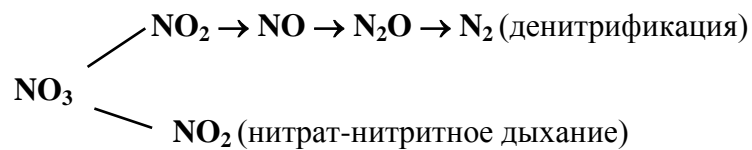
полно изучена уреазы. С действием уреазы связаны процессы гидролиза и превращения в доступную форму азота мочевины. Конечными продуктами гидролиза являются аммиак и углекислый газ. Аммиак служит непосредственным источником азотного питания для высших растений. В процессе биохимической аммонификации широко участвуют и ферменты класса оксидоредуктаз.

При аэробнозисе аммиачный азот окисляется до нитратной формы при участии нитрифицирующих микроорганизмов. При окислении аммония принимают участие различные окислительные ферменты - аммонийоксидаза, гидроксиламиноксидаза, нитритоксидаза. В условиях анаэробнозиса существенное значение имеют процессы денитрификации, в которых участвует последовательно действующая система ферментов. Восстановление нитратного азота до нитритного катализируется ферментом нитратредуктазой. Нитратредуктаза, представляющая собой металлоэнзим, содержит молибден в качестве активатора, переносит атом водорода к кислороду нитратов. В результате нитраты восстанавливаются до нитритов. Процесс восстановления нитритов через гидроксиламин до гидроокиси аммония и далее до газообразных окислов азота осуществляется нитритредуктазой, активность которой стимулируется ионами Fe^{3+} и Cu^{2+} .

В зависимости от того, в каком качестве выступают нитраты - источника азота или кислорода, различают соответственно ассимиляционную и диссимиляционную нитратредукцию. Конечные продукты восстановления при этом различаются. При ассимиляционном восстановлении нитратов микроорганизмы восстанавливают нитраты через нитриты до аммиака:



При диссимиляционном восстановлении нитраты используются в качестве источника кислорода (нитратное дыхание), в результате чего нитраты восстанавливаются денитрифицирующими бактериями до свободного азота. Некоторые бактерии способны к нитрат-нитритному дыханию, при котором нитрат восстанавливается до нитрита:



В круговороте органических веществ в природе особое место занимает фосфор – один из важнейших элементов питания, необходимых для роста и развития живых организмов. Мобилизацию закрепленного в органическом веществе фосфора до соединений, доступных растениям, осуществляют фосфогидролазы. Фосфатаза катализирует гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты (глицерофосфатов, сахарофосфатов и др.) с отщеплением остатков ортофосфорной кислоты.

Наряду с биохимическим превращением органических остатков и минеральных соединений с образованием доступных питательных веществ и освобождением энергии, почвенные ферменты участвуют на отдельных этапах биогенеза гумуса.

Согласно гипотезе гумификации М.М. Кононовой [1963], процесс образования гумусовых кислот протекает в две стадии. На первой происходит распад органических остатков до мономеров, а на второй – конденсация и полимеризация гумусовых веществ. Эта стадия включает ферментативное окисление фенольных производных до хинонов и последующую конденсацию фенольных соединений и хинонов с аминокислотами и пептидами. Реакции окисления фенольных соединений с участием кислорода воздуха катализирует фермент полифенолоксидаза, а за счет кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода, – пероксидаза. Активность этих ферментов определяется, прежде всего, степенью аэробности в почве. Так, в анаэробных условиях увеличивается активность сульфатредуктазы. Кислород сульфатов при этом служит акцептором водорода при дыхании микроорганизмов. В результате сульфаты восстанавливаются до сульфидов. Ферриредуктазы используют кислород окиси железа в качестве акцептора электронов в окислительно-восстановительных процессах. При этом окисные формы железа восстанавливаются в закисные. Имея данные об активности ферриредуктазы в почве, можно иметь представление о доступности железа растениям. Так, А.Е. Возбуцкая [1964] отмечает, что при высоком значении окислительно-восстановительного потенциала и достаточной влажности железо при участии микроорганизмов переходит в форму окисного железа, которое растворимо лишь в сильноокислой среде рН₂.

К классу оксидоредуктаз относится и фермент каталаза, который входит в состав дыхательных ферментов. В результате ее активирующего действия происходит

расщепление перекиси водорода, ядовитой для живого организма, на воду и свободный кислород, а также окисление первичных спиртов и других соединений. Перенос электрона по цепи сопровождается синтезом АТФ, поэтому для микроорганизмов разложение перекиси – один из источников пополнения запасов высокоэнергетических материалов для осуществления синтетических процессов.

Среди ферментов, участвующих в процессах дыхания почвенной микрофлоры, большое значение имеют дегидрогеназы, которым принадлежит ведущая роль в реакциях дыхательного обмена.

Дегидрогеназы катализируют реакции отщепления водорода, т.е. дегидрирования органических веществ. Отщепляемый в процессе дегидрирования водород может передаваться кислороду воздуха (аэробные дегидрогеназы) или органическим веществам типа хинонов (анаэробные дегидрогеназы).

Субстратами дегидрирования могут быть различные углеводы, органические кислоты, аминокислоты, спирты, гуминовые кислоты и т.д.

Таким образом, ферментный пул почвы очень богат, разнообразен и участвует на всех этапах трансформации, поступающих в почву органических соединений, и является важнейшим регулятором биохимического гомеостаза почвы.

2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ТОРФА

Основу торфа составляют растительные остатки твердых полимеров целлюлозной природы и продукты их распада, находящиеся в равновесии с водным раствором низко- и высокомолекулярных веществ. Неорганическая часть представлена в торфе нерастворимыми минералами разной природы, адсорбционными образованиями минералов с гуминовыми веществами, неорганическими компонентами торфяной воды, ионообменными гетерополярными органоминеральными комплексами и комплексно-гетерополярными производными.

Основными кинетическими единицами торфяных систем являются проницаемые для молекул воды и ионов агрегаты-ассоциаты макромолекул компонентов [Лиштван и др., 1989]. Упорядоченные же участки продуктов распада или зародыши новой фазы, наряду с агрегатами битумов, ориентированными участками трудно- и легкогидролизуемых веществ и нерастворимыми неорганическими соединениями, труднопроницаемы для молекул воды и ионов.

В торфе следует различать макро- и микроструктуры. Из неразложившихся остатков растений-торфообразователей (древесных, травяных и моховых) образованы легкодеформируемые структуры переплетения. Степень их развития определяется глубиной биохимического распада торфообразователей. Ячейки структур переплетения заполняют микроструктуры торфа, формирующиеся из надмолекулярных образований продуктов распада, а также индивидуальных органических и минеральных соединений. Посредством сил различной природы эти соединения объединяются в ассоциаты (агрегаты), образуя внутри- и межагрегатные структуры различной компактности. Закономерности формирования таких структур определяются ботаническим составом, степенью разложения торфа, условиями торфообразования и химическим составом среды. Чаще эти рыхлые образования состоят из хаотически расположенных молекул, микрообъемы между которыми заполнены сорбированной водой и иммобилизованным раствором низко- и высокомолекулярных соединений.

В пределах ассоциатов могут сосуществовать волокна, обрывки растительных тканей разной дисперсности, битумные частицы, продукты распада и минеральные включения. Все эти компоненты образуют гамму нестабильных комплексов, компактность которых определяется природой торфа, энергией и характером межмолекулярных сил. Основу последних составляют взаимодействия между активными функциональными группами (COOH, OH и др.) посредством водородных связей, через ионы и молекулы среды, а также за счет химических и других связей и сил. Поэтому *к торфяным системам применимо правило динамического дисперсионного равновесия*: компактно-агрегированное состояние \leftrightarrow гель \leftrightarrow золь \leftrightarrow истинный раствор.

Гидрофильность торфа обусловлена наличием в структуре его компонентов активных функциональных групп (COOH, OH и др.), способных удерживать молекулы воды за счет водородных связей. Гидрофобные составляющие торфа, в основном битумы, термодинамически и агрегативно неустойчивы и сосуществуют с другими компонентами торфа.

По существующим представлениям мерой гидрофильности веществ и тел служит энергия связи молекул воды с их центрами сорбции. Эта энергия эквивалентна удельной теплоте смачивания. Если ее величина для дисперсных тел с жестким скелетом меньше энергии образования пленки воды ($116 \cdot 10^{-7}$ Дж/см²), то эти тела относятся к гидрофобным, и наоборот. По данным сорбционных исследований, условная удельная поверхность торфа составляет 250 – 400 м²/г. Теплота смачивания торфа находится в пределах 105 – 134 Дж/г. Удельная теплота смачивания $(400 - 500) \cdot 10^{-7}$ Дж/см², что в

несколько раз выше граничного значения гидрофильности и доказывает **принадлежность торфа к гидрофильным системам.**

Сорбция воды в торфе проходит во всем объеме ассоциатов. Емкость моносорбции включает воду, связанную с функциональными группами за счет водородных связей, и воду ближней гидратации ионов. Сорбция на вторичных, третичных и последующих центрах приводит к образованию «островков» сорбированной воды и объема воды полисорбции. Это физико-химически связанная вода. Ее содержание в низинном торфе составляет $(49,6 \pm 1,2)\%$, а в верховом $(46,7 \pm 1,5)\%$. Объем полисорбции соответствует примерно трем объемам моносорбции. Однако для основной массы воды в торфе характерны слабые формы связи. Это осмотическая, иммобилизованная, внутриклеточная, структурно захваченная и капиллярная категории влаги [Лиштван, 1996].

Наличие в торфе гидрофильных полукolloидов, стабилизированных гидрофобных включений, а также растворов и дисперсий высокомолекулярных соединений придает ему специфические свойства, отличающие его от типичных коллоидных гетерогенных систем.

Невысокий отрицательный заряд торфяных ассоциатов (до -18 мВ) мозаичен, дискретен, распределен как на внешнем контуре, так и внутри влагонасыщенной частицы, и определяется суммой элементарных зарядов, образовавшихся в результате отщепления (диссоциации) в жидкой среде от функциональных групп ионов водорода и поглощенных ионов. Электрический заряд возникает также и на поверхности агрегатов, имеющих мозаичные микродиффузные слои ионов. Поэтому ионный состав среды играет важную роль в формировании структуры торфа и соотношении в нем упорядоченной и неупорядоченной частей.

Сложность состава торфа связана с наличием в его объеме органической, минеральной и водной компонент. Следует отметить, что перечисленные три составляющие торфа являются в свою очередь также сложными. Торфяная вода, например, представляет собой раствор низко- и высокомолекулярных соединений.

В торфе содержатся частицы самой разнообразной формы и размеров (от долей микрометра до нескольких сантиметров и даже метров — остатки древесных пород), поэтому ***торф является полидисперсной или полифракционной системой.*** Фракция— совокупность частиц в узком интервале размеров.

В зависимости от условий отдельные компоненты торфяных систем могут находиться в различных состояниях: коллоидном, истинного раствора и других промежуточных. Поэтому ***торф относят к полукolloидным системам.*** Примером

таких систем в торфе являются гуминовые вещества.

Высокомолекулярность торфа обусловлена его происхождением (генезисом), так как растения-торфообразователи являются природными полимерами.

Низкомолекулярные неорганические соединения (кислоты, соли, щелочи) при растворении образуют электролиты. Высокомолекулярные соединения, включающие активные, способные к диссоциации функциональные группы, называются полиэлектролитами. Активные ионогенные группы в торфе имеют, например, гуминовые вещества, что придает *торфу признаки полиэлектролитов*.

Все гетерогенные, т.е. разнородные (многофазные) системы, в отличие от гомогенных (однородных), имеют реальную поверхность раздела фаз. Микромозаичность означает прерывистость поверхности. На внешнем контуре и внутри торфяных частиц могут образовываться участки с границей раздела. Такая особенность присуща и полимерам. Изложенное позволяет считать физику и химию торфа специальной частью физико-химии дисперсных систем и высокомолекулярных соединений.

Исходя из этих представлений, с современной физико-химической точки зрения, торф – полуколлоидно-высокомолекулярная многокомпонентная полифракционная гидрофильная система с признаками полиэлектролитов и микромозаичной гетерогенности.

Однако такое состояние торфа сформировалось в результате разложения растений-торфообразователей в результате химических и биохимических превращений. Биохимические превращения катализируются ферментами живого населения торфов, а также ферментами, утратившими связь с живыми организмами (в т.ч. растительными) и адсорбированными торфом. Микроорганизмы и ферменты различаются между собой по своему каталитическому аппарату, термодинамическому действию и направлению превращений. Им требуются определенные факторы среды: питательные и биологически активные вещества, рН среды, гидротермические и окислительно-восстановительные условия.

Биологическая составляющая торфов чрезвычайно чувствительна к изменению условий. Их активность может возрасти на 300–400 %. Однако до сих пор биологический состав торфов слабо изучен. Больше повезло микробиологической составляющей. Широко известны работы Т.Г. Зименко [1977], Т.Г. Зименко и др. [1983], Л.М. Загуральской [1966, 1967, 1982], Н.Н. Наплековой [1970, 1979] и гораздо в меньшей степени – энзимологии торфов и торфяных почв.

Основной причиной интенсивности распада исходных растений-торфообразователей и далее торфов являются не продолжительность распада (возраст), а состав их органического вещества, имеющий различную микробиологическую и ферментативную устойчивость. Так, например, листва ольхи, березы и других древесных пород, содержащая до 7 % золы, до 4 % азота, служит благоприятным субстратом для развития микроорганизмов. Содержание золы в стволах древесины составляет только 0,25-0,3 %, но проникающие в древесину гифы микроорганизмов привносят с собой необходимый каталитический аппарат. Отсюда понятна высокая степень разложения исследуемых торфов. С другой стороны, бедное водно-минеральное питание моховых болот приводит к крайне ограниченному распаду торфа. Многометровые пласты слаборазложившегося сфагнового торфа являются характерным подтверждением сказанного.

Микробиологический распад органического вещества начинается уже в верхних горизонтах и продолжается в погребенных пластах. Но механизм трансформации органического вещества у разных видов торфа имеет свою видовую специфику.

Накопление органического вещества (формирование торфяной залежи) является следствием торможения биологических процессов. В условиях торфяной залежи оно обусловлено наличием в торфообразователях антисептиков, а также тем, что процессы ферментативного омыления ОСН₃-групп освобождают заблокированные фенольные группы. Их появление также может быть связано с накоплением новых фенольных групп в процессе дегидратации протогуминов при гумификации. Причем с ростом степени разложения возрастает выход фенолсодержащих соединений – гуминовых и воднорастворимых фульвокислот, которые тормозят деятельность микробов, так как они представляют собой фенолсодержащие дубители и антиокислители [Раковский, Пигулевская, 1978].

Таким образом, роль биологических процессов в формировании состава органического вещества торфов в торфяной залежи очевидна. Вместе с тем их активность определяется не только физическими и химическими факторами (условия жизнедеятельности), специфическим ферментативным аппаратом, но и химическим составом среды, а также особенностями состава растений-торфообразователей. Итак, **торф – это также и биологическая система**, состоящая из микроорганизмов и ферментов растительного и животного происхождения, которые активно участвуют в трансформации растений-торфообразователей и образовании торфа на протяжении всего торфообразовательного процесса.

3. ОТБОР ПРОБ И ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Ферментативную активность определяют с разной целью: изучение ферментативной активности торфяных почв и торфов, ризосферной зоны, пахотного горизонта, трансформации органического вещества торфов разного ботанического состава.

3.1. ОТБОР ПРОБ

С целью изучения ферментативной активности репрезентативных торфов и торфяного профиля производят отбор проб торфа в пластообразующих слоях или по всему профилю на представительных торфяных месторождениях для каждого района исследований. В основу выбора представительных торфяных месторождений должно быть положено болотное районирование исследуемой территории. Каждое торфяное месторождение рассматривается по генетическим и практическим критериям.

Генетические критерии: подстилающие породы, геохимический состав подземных вод неоген-четвертичного возраста, геоморфология, строение торфяной залежи.

Практические критерии: наличие детальной разведки торфяного месторождения, площадь не менее 100 га, давность разведки не более 5 лет, доступность для исследования, удаленность торфяного месторождения от границ болотных районов.

Методика отбора проб в торфяной почве и торфов включает два этапа: подготовительный и экспедиционный.

В подготовительный период изучается имеющийся информационный материал по объекту исследования (геологический отчет по детальной или предварительной разведке), который заносится в полевой журнал:

- общие сведения (административный район, расстояния от ближайших пунктов);
- геоморфолого-генетическое описание (характеристика подстилающих грунтов, их литология, геоморфологическое расположение);
- гидрографическое описание (основные водоприемники, гидрографическая сеть на торфяном месторождении, химический состав болотных вод);
- описание растительного покрова;
- характеристика торфяной залежи;
- виды залежи и виды торфа, их процентное содержание.

Это позволит выбрать преобладающие (пластообразующие) виды торфов и типы залежей. С целью изучения для отбора образцов по торфяной залежи, площадь залежи должна составлять не менее 30% от общей площади торфяного месторождения.

Из геологического отчета копируется схема расположения торфяного месторождения, план. К перечисленному материалу прилагаются топографические карты территории обследования масштабом 1:50000.

Пункты отбора проб образцов репрезентативных видов торфа и торфяной залежи выбирают в генетических центрах крупных типовых участках и охватывают все преобладающие виды торфяных залежей. Типовой участок – участок торфяного месторождения с одинаковой торфяной залежью (пробоотборочный).

Образцы торфа отбирают торфяным буром ТБГ-1 через каждые 0,25 м на всю глубину торфяной почвы (если ее мощность превышает 1 м), включая минеральный грунт, или через 0,1 м при мощности торфяной почвы до 1 м. Длина челнока бура 50 см. После удаления порции торфа челнок тщательно очищают для взятия следующей пробы. В каждом образце определяют ботанический состав, степень разложения и зольность (подробно об этом рассматривается в гл. 3.4).

При изучении ферментативной активности под различной растительностью образцы торфяной почвы берут из зоны ризосферы по фазам развития растений. При изучении пахотных торфяных почв образцы берут буром на всю глубину пахотного слоя.

При исследовании влияния удобрений и агрохимических приемов на биохимические процессы пробы отбирают несколько раз в течение вегетационного периода, приурочивая сроки отбора образцов к фазам развития сельскохозяйственных культур. В этом случае берут смешанные пробы. На каждую стометровую делянку рекомендуют брать 15 проб по диагонали делянки [Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов, 1966]. Каждый образец составляют из трех проб. Если делянка меньше 200 м², то достаточно брать 9 проб по диагонали делянки, из которых получают 3 образца. Каждый образец анализируют отдельно. Результаты исследований обрабатываются статистическими методами.

3.2. Подготовка к анализу

При изучении ферментативной активности в динамике на полевых или модельных экспериментах лучше использовать свежие образцы торфа и в тот же день получить вытяжку. Если эта процедура растягивается на несколько дней, то естественно-влажные

торфа оставляют в двойных тёмных полиэтиленовых пакетах, хорошо изолированных от воздуха, и хранят при температуре 4°C в холодильнике. При анализе свежие образцы торфа отделяют от корней растений, навеску увлажняют применяемым при анализе буферным раствором и растирают структурные агрегаты торфа резиновым пестиком.

Высушенные образцы торфа до воздушно-сухого состояния в тени отделяют от корней, остатков древесины, растирают, просеивают через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещают в полиэтиленовые пакеты и хранят в тёмном прохладном помещении. В этих условиях торф может содержаться несколько месяцев без существенного изменения ферментативной активности. Перед постановкой опыта определяют влажность торфа и используют поправочный коэффициент при пересчете активности на массу торфа. Условия высушивания и хранения образцов должны быть одинаковыми.

Во всех случаях показатели ферментативной активности переводят на вес воздушно-сухой почвы и обязательно указывают, в каких образцах торфа (сухих или естественно-влажных) выполнены анализы. Ферментативную активность определяют в нескольких повторностях с последующей статистической обработкой результатов.

3.2.1. Методические аспекты определения ферментативной активности

Прежде всего, необходимо выяснить, в каких образцах – сухих или естественно-увлажненных предполагается определять ферменты. По этому вопросу мнения ученых расходятся.

Большинство исследователей-энзимологов отмечают целесообразность определения активности ферментов в воздушно-сухих образцах почвы [Кацнельсон, Ершов, 1958; Рунов, Терехов, 1960; Купревич, Щербакова, 1961; Галстян, 1964; Галстян, 1965а; Галстян, 1965б; Купревич, Щербакова, 1966; Смирнов и др., 1968; Купревич, 1958; Звягинцев и др., 1976; Раськова, Звягинцев, 1977]. Преимущество такого выбора заключается в следующем: во-первых, в воздушно-сухом состоянии анализируется сравнительно однородная почва, в результате чего коэффициент вариации результатов исследований снижается, а точность анализа повышается; во-вторых, высушивание образцов замедляет или исключает нежелательные микробиологические процессы при хранении и тем самым не искажает естественную ферментативную активность почв; в-третьих, при большом объеме аналитических работ невозможно определить ферментативную активность во всех отобранных образцах.

Вместе с тем многие авторы в своих исследованиях показывают неоднозначное изменение ферментативной активности при высушивании образцов. Так, Е. Гофман

[Hofmann, 1959], Е.В. Рунов и О.С. Терехов [1960], В.Н. Смирнов и др. [1968], Дж. Лэдд и Дж. Батлер [Ladd, Butler, 1972] в своих работах отмечают незначительную потерю активности ферментов при высушивании образцов и их хранении в течение 3-12 мес. Другие авторы [Раськова, Звягинцев, 1977; Раськова, Звягинцев, 1984; Pancholy, 1972] в проведенных исследованиях показали значительную инактивацию ферментативной активности при высушивании и хранении образцов. Значительную потерю (40–80%) активности дегидрогеназы, протеазы, фосфатазы, амилазы в дерново-подзолистой почве при высушивании наблюдали Н.В. Раськова и Д.Г. Звягинцев [1984].

В. Е. Голимбет [1982] отмечает, что высушивание, хранение и прогревание почвенных образцов в значительной степени влияют на активность ферментов. Автором отмечается, что разные группы ферментов (внеклеточные ферменты, ферменты микроорганизмов, ферменты растений и др.) неодинаково реагируют на воздействие различных факторов. Поэтому установить строгую корреляционную зависимость между активностью гидролитических, окислительно-восстановительных ферментов и гидротермическим фактором автору не удалось. Однако, по всей вероятности, происходит изменение ферментативной активности при высушивании почвы. Это можно объяснить следующими причинами: а) уменьшением микробной популяции; б) увеличением количества внеклеточных ферментов; в) закреплением ферментов в клетке; г) возрастанием внутриклеточной энзиматической активности некоторых микроорганизмов за счет изменения проницаемости клеток. А.Ш. Галстяном [1982] проведено изучение активности ферментов почв в свежих и воздушно-сухих образцах. Установлено, что иммобилизованные почвой ферменты обладают высокой устойчивостью в воздушно-сухом состоянии. В течение первого года хранения почвы в воздушно-сухом состоянии инактивация ферментов незначительна – до 10%, через 10 лет – от 24 до 60% для разных ферментов, за 20 лет – от 44 до 80% и за 25 лет – от 49 до 84% первоначальной активности. Автором делается вывод, что иммобилизованные почвой ферменты можно рассматривать в качестве диагностического показателя почв. Безусловно, поступление в естественных условиях корневых остатков, их разложение, выделение ферментов растениями, микрофлорой и фауной будут изменять ферментативную активность почв. Но после того как образцы почв изъяты из естественной экологической среды, поведение ферментов может и стабилизироваться. Таким образом, с методической стороны очень важен вопрос о состоянии активности ферментов в сухих и влажных образцах. В проведенных нами опытах содержание ферментов из группы гидролаз и окислительно-восстановительных различалось в сухих и сырых образцах почв. В органогенной почве

отклонение по каталазе в среднем за вегетационный период и по профилю составило 30%, в минеральной – 300%, по инвертазе соответственно 10 и 3%, пероксидазе – 33 и 32%, причем если активность ферментов инвертазы и каталазы возрастала в сухих образцах, то пероксидазы – в сырых. Корреляционная зависимость между активностями ферментов в сырых и сухих образцах отсутствует.

Проведенные нами эксперименты показали, что при высушивании торфа теряется значительная часть протеолитической активности. Так, осоковый вид торфа теряет 71,7% активности протеазы, фускум торф - 22,2%. Следует добавить, что при высушивании торфа значительно снижается активность дегидрогеназы и уреазы.

Вполне вероятно, что одной из причин потери ферментативной активности при высушивании торфов является коагуляция гуминовых веществ. Известно, что ферменты связаны с гумусовыми веществами прочными связями, причем последние повышают устойчивость первых к неблагоприятным факторам [Щербакова и др., 1981; Галстян, Абрамян, 1985; Масько, Галушко, 1989; Масько и др., 1992]. При высушивании торфа происходит коагуляция гумусовых веществ, в результате чего снижается степень дисперсности и тем самым уменьшается удельная поверхность частиц, на которой возможно взаимодействие ферментов с субстратом. Поэтому можно предполагать, что в торфах низинного типа, характеризующихся высоким содержанием гуминовых веществ, при высушивании происходит большая инактивация ферментативной активности, чем в верховых торфах. Очевидно, высушивание образцов также влияет на иммобилизацию ферментов и частичную инактивацию белковой молекулы фермента.

Вышеизложенное вызвало постановку другой методической задачи - происходит ли восстановление исследуемой ферментативной активности при увлажнении сухих образцов торфов. Влияние увлажнения сухих образцов на ферментативную активность было изучено нами на примере протеолитической и дегидрогеназной активности, последняя определялась по методу А.Ш. Галстяна. Сухие измельченные образцы торфа смачивали до влажности 70% от полной влагоёмкости. Проведенные эксперименты показали, что протеолитическая и дегидрогеназная активность по-разному реагировали на увлажнение. Увлажнение образцов осоково-гипнового торфа в течение двух суток способствовало увеличению активности дегидрогеназы и протеазы соответственно в 22,3 и 7,5 раза; увлажнение вахтового вида торфа не оказало влияние на активность ферментов [Савичева, 1997]. Увлажнение сухих образцов торфа осокового вида не восстанавливает первоначальную протеолитическую активность, так как при повторном смачивании воздушно-сухая масса торфа никогда не достигает первоначальной степени насыщенности

водою, вследствие необратимой коагуляции коллоидов. Длительность увлажнения, как показали наши опыты, не имеет значения. В аналогичных опытах В.Ф. Купревич и Т.А. Щербакова [1966] показали, что не следует увлажнять воздушно-сухие образцы торфяных почв, так как увлажнение вызывает повышение активности протеазы, иногда значительно превышающую первоначальную.

Таким образом, на наш взгляд, правильнее определять ферменты в сухих образцах как при разовых определениях, так и в динамике, за исключением специальных опытов по выделению ферментов разного происхождения. Это позволит сравнивать почвы разных провинций, а следовательно, и оценивать их естественную ферментативную активность. При этом будут устранены аналитические ошибки. Так, при анализе сырых образцов возможно неполное взаимодействие почвы с раствором, соответственно ферменты не полностью будут десорбироваться из почвы в раствор. Кроме того, при пересчете результатов анализов на сухую почву можно внести в них некоторую искусственность вследствие завышения коэффициента пересчета. Следует также заметить, что в процессе работы с сырым торфом до получения из него вытяжки происходит испарение влаги и влажность, определенная в начале проведения анализа, может не соответствовать влажности почвы при непосредственном контакте раствора и почвы.

Таким образом, определение ферментов в сухих образцах позволит получить более надежные и сравнимые результаты.

Представляет интерес определение числа повторности, активности ферментов в каждом горизонте торфяного профиля. Для этого определение активности ферментов было проведено в пятикратной повторности, рассчитаны статистические показатели оценки выборки и затем определено необходимое число повторностей анализа отдельных ферментов. Число повторностей, принятое при доверительной вероятности 0,95, рассчитывалось по формуле

$$\frac{t}{\sqrt{n}} = \frac{M \eta}{\sigma},$$

где t – критерии Стьюдента при 5-процентном уровне значимости;

n – число членов выборки;

η – точность опыта в долях;

σ – среднее квадратическое отклонение;

M – средняя арифметическая.

3.3. Определение общетехнических свойств

Торфяная залежь (с точки зрения геологов) и торфяная почва (с точки зрения почвоведов) представляет собой закономерное напластование отложений торфа. По условиям водно-минерального режима и составу растений-торфообразователей торф делится на три типа – верховой, переходный, низинный. Первичной единицей классификации торфов является вид торфа, в названии которого отражаются преобладающие в торфе остатки растений-торфообразователей. К настоящему времени известно 40 видов торфа, перечень которых приведен на рис. 1. Вид торфа характеризуется процентным соотношением остатков растений-торфообразователей, отражающих исходные фитоценозы. Закономерное вертикальное сочетание отдельных видов торфа от поверхности до минерального дна торфяного месторождения образуют различные виды строения торфяной залежи, основные типы которых представлены верховыми, смешанными, переходными, низинными. Основными свойствами торфа являются: вид торфа, степень разложения и зольность.

Ботаническим анализом торфа называют анализ состава растений-торфообразователей, распознаваемых по растительным остаткам, встречаемым в торфе, с целью установления вида торфа. Этот анализ выполняется при помощи биологического микроскопа при увеличении 80 или 100 [ГОСТ 28245.2 – 89].

Из пробы торфа небольшими порциями берут 10–12 г торфа, помещают на белый лист бумаги и с помощью пинцета извлекают из массы торфа крупные макроостатки растений – по одному экземпляру каждого вида.

Эти остатки помещают в чашку Петри с водой, промывают, переносят на предметное стекло, затем под микроскопом идентифицируют вид растения.

После просмотра макроостатков пробу переносят на сито с размером отверстий 0,25 мм и промывают струей водопроводной воды в условиях мягкого режима. Промывку заканчивают, когда промывная вода становится прозрачной. Отмытое растительное волокно помещают на предметное стекло. Из перемешанной массы на анализ берут пинцетом порцию со спичечную головку, помещают на предметное стекло, добавляют каплю воды для распределения растительных остатков в одном слое.

Если в торфе обнаружены сфагновые мхи, то препарат окрашивают метиленовой синью.

Принадлежность растительных остатков к тому или иному виду растения устанавливают по существующим атласам и руководствам. Оpoznанный вид растения вносят в журнал наблюдений. Для каждого вида растения определяют процентное содержание остатков с 5-процентной точностью. Название типа и вида торфа по данным ботанического состава устанавливают по определителю видов торфа и отмечают в журнале анализа.

Разрушение органического вещества растений-торфобразователей микроорганизмами характеризуется **степенью разложения (R)**. Степень разложения торфа – это отношение количества бесструктурной массы, потерявшей клеточное строение к общему количеству торфа. Она является важнейшим показателем качественной характеристики торфа и колеблется в пределах 0–70%.

Существует несколько методов определения степени разложения. Это классический микроскопический метод П.Д. Варлыгина [ГОСТ 28245.2 – 89], метод центрифугирования [ГОСТ 10650 – 72] и полевой метод определения степени разложения. Остановимся подробно на полевом методе (табл.1) [Ефимов и др., 1987].

Зольностью (А) называется остаток, образующийся при полном сгорании торфа. Первичная (или конституционная) зольность - продукт полного окисления и разложения неорганической части растений-торфообразователей, вторичная (наносная) – продукт преобразования минеральных веществ, поступивших в торфяную почву в виде атмосферной пыли, с грунтовыми и поверхностными водами.

По данным С.Н. Тюремнова [1976], различным типам торфа соответствуют следующие показатели конституционной зольности (%): верховой – 2 – 4; переходный – 4 – 6; низинный – 6 – 13 (до 18). Различают нормальнозольные и высокозольные торфа. Н.Я. Кац [1948] считает границей между нормальнозольными и высокозольными торфами 8 – 10%, М.Н. Никонов [1955] – 10 – 12%, С.Н. Тюремнов [1976] – 18 %. Максимальная зольность условно принимается за 50 %.

Определение зольности в лабораторных условиях производят согласно ГОСТ 11305 – 83. Пробу торфа в воздушно-сухом состоянии массой 6 – 8 г берут в предварительно взвешенный фарфоровый тигль. Взвешивают. Фарфоровые тигли с навеской торфа помещают в муфельную печь и прокаливают образовавшийся зольный остаток при температуре 800 °С в течение 2 ч. После этого тигли с зольным остатком вынимают, охлаждают сначала на воздухе в течение 5 мин, а затем в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают.

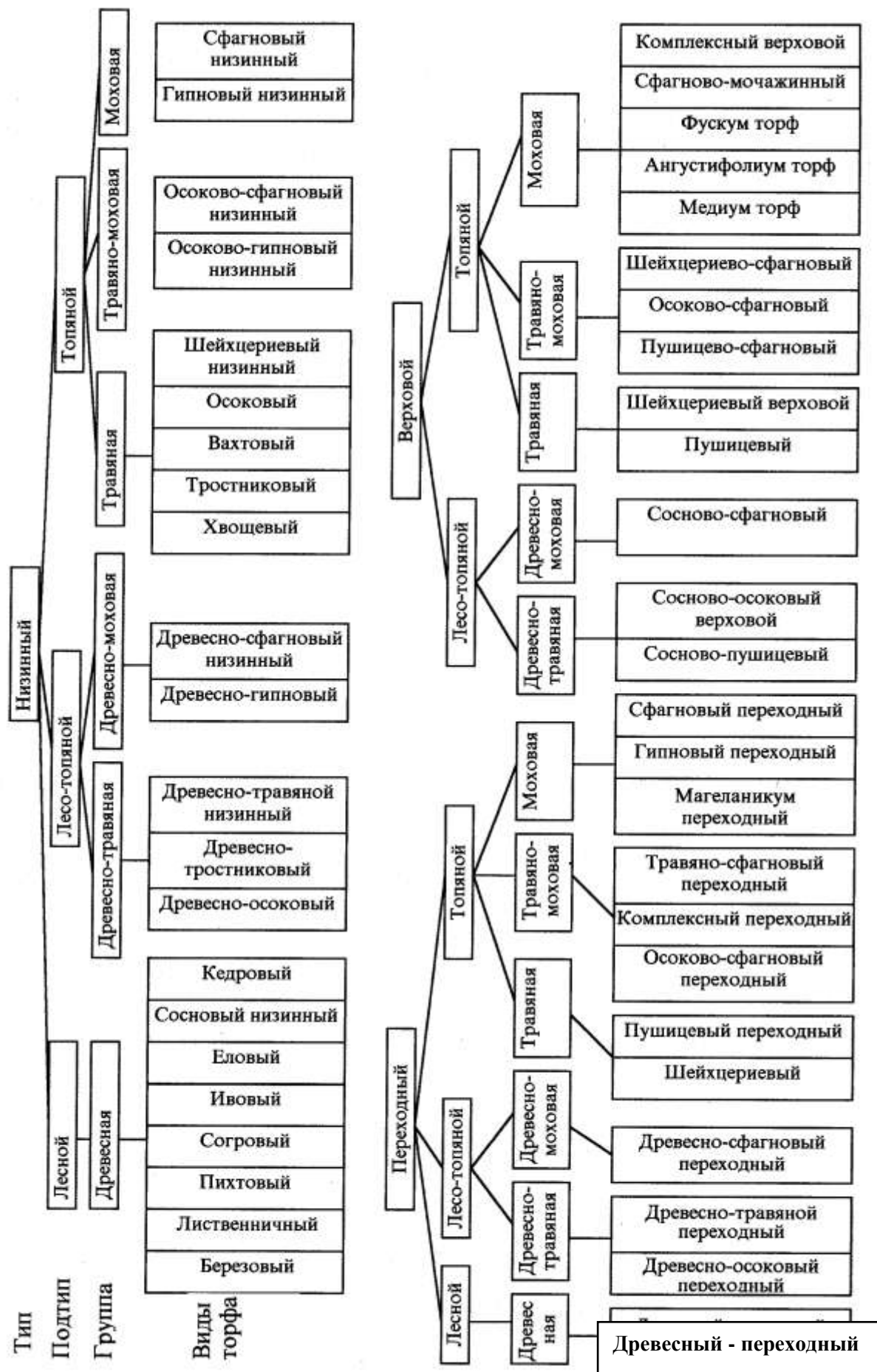


Рис. 1. Схема классификации торфов

Т а б л и ц а 1. Полевой метод определения степени разложения

<i>Степень разложения, %</i>		<i>Основные признаки</i>
<15	неразложившийся	Торфяная масса не продавливается между пальцами. Поверхность сжатого торфа шероховатая от остатков растений, которые хорошо различимы. Вода выжимается струей как из губки, прозрачная светлая
15-20	весьма слаборазложившийся	Вода выжимается частыми каплями, почти образуя струю, слабо-желтая
20-25	слаборазложившийся	Вода отжимается в большем количестве, желтого цвета. Растительные остатки заметны хуже
25-35	среднеразложившийся	Масса торфа почти не продавливается между пальцами. Остатки растительности заметны. Вода отжимается частыми каплями, светло-коричневого цвета. Торф слабо пачкает руку
35-45	хорошо разложившийся	Масса торфа продавливается между пальцами слабо. Вода выделяется редкими каплями, коричневого цвета
45-55	сильноразложившийся	Масса торфа продавливается между пальцами, пачкая руку. В торфе заметны лишь некоторые растительные остатки. Вода отжимается в малом количестве, темно-коричневого цвета
>55	весьма сильноразложившийся	Торф продавливается между пальцами в виде грязеподобной черной массы. Вода не отжимается. Растительные остатки совершенно не различимы

Для контроля тигли с зольным остатком прокаливают еще раз в течение 40 мин при температуре 800 °С. После охлаждения и взвешивания определяют изменение массы. Если изменение массы в сторону уменьшения или увеличения будет менее 0,005 г, то испытание заканчивают и для расчета принимают последнюю массу. При уменьшении массы на 0,005 г и более тигли с зольным остатком дополнительно прокаливают в течение 40 мин до тех пор, пока разность в массе при двух последовательных взвешиваниях будет менее 0,005 г.

Зольность торфа вычисляют по формуле

$$A = (m_3 / m) \cdot 100,$$

где m_3 – масса зольного остатка, г; m – масса навески торфа до озоления, г.

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ

Определение активности ферментов основано на учете количества переработанного в процессе реакции субстрата или образующегося продукта реакции в оптимальных условиях температуры, рН среды, концентрации субстратов, величины навески почвы.

Сущность методов определения активности ферментов почвы заключается в следующем: навеску почвы насыщают антисептиком (толуолом), добавляют буферный раствор с рН, оптимальным для данного фермента, и определенное количество субстрата. Реакционную смесь в основном при температуре 30...37⁰ С выдерживают в термостате в течение определенного времени и после этого проводят количественный учет продуктов реакции.

В торфяной почве и торфах всегда присутствуют вещества, аналогичные продуктам распада большинства органических веществ, применяемых в качестве субстратов при энзимологических исследованиях. Поэтому для корректировки результатов определения активности ферментов ставят следующие контрольные опыты:

1. Контроль на почвенные вещества, учитываемые вместе с продуктами ферментативной реакции (контроль без субстрата). Торфяную почву и торфа обрабатывают толуолом, вносят буфер и соответствующий объем воды вместо субстрата. Дальнейшие операции аналогичны опытному. Для каждой пробы торфа ставят один контроль.

2. Контроль на чистоту реактивов и субстрата и на спонтанный распад субстрата (контроль без почвы). В реакционные сосуды наливают указанные в соответствующей методике количества субстрата, буфера и антисептика и контрольную смесь обрабатывают, как опытную. Достаточно поставить два контроля для данной серии реактивов и субстрата.

Ферментативная активность, как правило, определяется в трехкратной повторности. При вычислении окончательных результатов проводится статистическая обработка данных (среднее арифметическое, ошибка среднего арифметического, коэффициент вариации).

Активность ферментов выражают в количествах переработанного субстрата или образующегося продукта реакции в течение определенного промежутка времени и рассчитывают на единицу веса торфяной почвы или торфа.

Другой единицей выражения ферментативной активности может быть т/га, что позволяет сравнивать ферментативную активность различных типов почв.

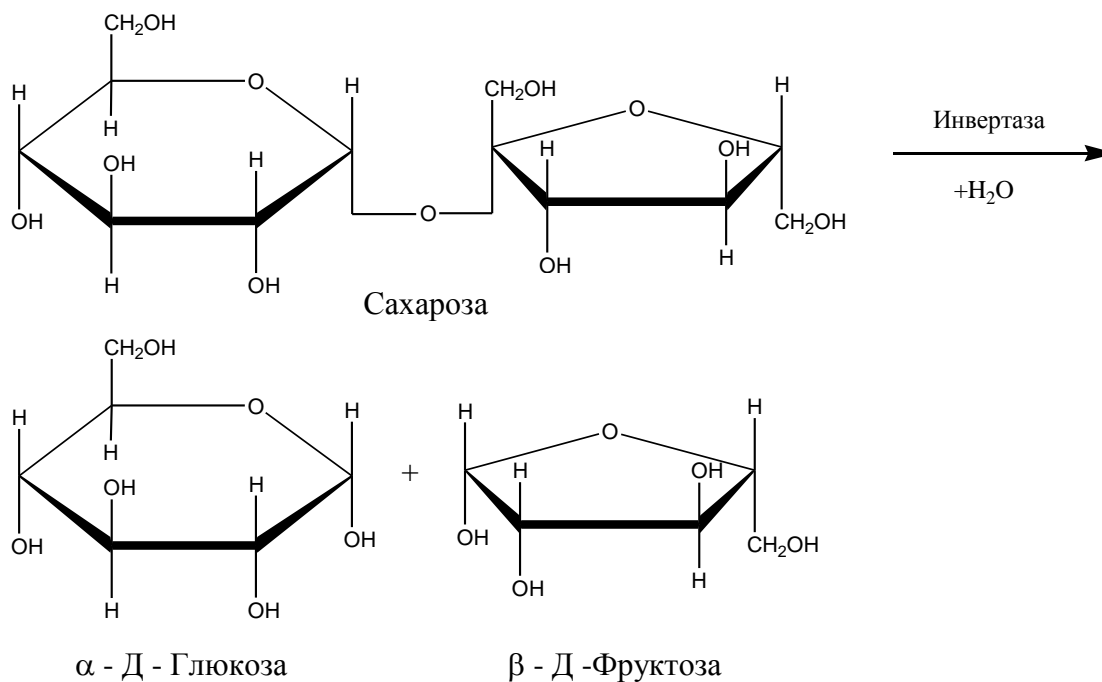
Как известно, торфяные почвы, состоящие в основном из органических остатков отмерших болотных растений, имеют рыхлое сложение и соответственно малую объемную массу, что в свою очередь накладывает отпечаток на все расчеты для этих почв. Если объемная масса различных минеральных почв колеблется около 1, часто превышая ее, то для торфа он находится в пределах 0,12–0,20. Если слой 0–10 см на 1 га минеральной почвы с объемной массой, равной 1, весит 1000 т, то тот же слой торфа на 1 га с объемной массой 0,15 весит только 150 т. Отсюда выводы многих исследователей о более высокой ферментативной активности торфяных почв по сравнению с минеральными или с осушенными торфяными почвами, имеющими также более высокую объемную массу, не всегда верны.

4.1. Гидролазы

Инвертазная активность.

(β-фруктофуранозидаса-(сахараза, инвертаза), β-фруктофуранозид-фруктогидролаза. КФ 3.2.1.26*)

Инвертаза гидролизует сахарозу на глюкозу и фруктозу по уравнению:



* Здесь и далее систематические названия и шифры ферментов даются по рекомендациям Международного биохимического союза (Номенклатура ферментов, 1979).

Химический метод основан на измерении количества редуцирующих гексоз (инвертных сахаров – глюкозы и фруктозы), образующихся при гидролизе сахарозы. Сумму редуцирующих гексоз выражают в глюкозном эквиваленте.

В основу метода положена реакция редуцирующих сахаров с 3,5-динитросалициловой кислотой, которая в щелочной среде при кипячении восстанавливается сахарами в 3-амино - 5 - нитросалициловую кислоту, имеющую желто-оранжевый цвет.

Ход анализа:

Навеску торфа (**0,2 г воздушно-сухого (в.-с.) торфа**) помещают в 50 мл колбочки с притертыми пробками, приливают 15 мл 8 %-ного раствора сахарозы, 5 мл фосфатного буфера с рН 4,9. Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 0,2 г торфа + 15 мл дистиллированной воды + 5 мл фосфатного буфера с рН 4,9;
- 2) 15 мл 8%-ного раствора сахарозы + 5 мл фосфатного буфера с рН 4,9 (без торфа).

В смеси добавляют по 3-4 капель толуола, содержимое колб тщательно перемешивают и ставят в термостат на 4 ч при температуре 37 °С. После экспозиции растворы охлаждают, отфильтровывают от почвы, берут в пробирки по 1 мл фильтрата, добавляют 2 мл реактива динитросалициловой кислоты и нагревают в кипящей водяной бане в течение 5 мин, что останавливает действие фермента и способствует проявлению окраски. Пробирки со смесью охлаждают, выдерживают 10-20 мин для полного окрашивания, доводят конечный объем смеси до 10 мл, хорошо перемешивают стеклянной палочкой и колориметрируют при длине волны 508 нм в кювете 5 мм против холостого раствора.

Холостой раствор: в пробирку приливают 1 мл дистиллированной воды, добавляют 2 мл динитросалициловой кислоты, опускают пробирку в кипящую водяную баню на 5 мин, охлаждают и приливают 7 мл дистиллированной воды.

При расчетах сумму показаний обоих контролей (1, 2) вычитают из показаний опытного раствора.

Активность инвертазы выражают в мг глюкозы на 1 г сухого торфа за 4 часа и вычисляют по формуле:

$$A = \frac{C_{\text{гл}} \cdot V \cdot k \cdot 10}{m \cdot V_a},$$

где A – потенциальная инвертазная активность, мг глюкозы за 4 ч на 1 г торфа;

$C_{\text{гл}}$ – концентрация глюкозы в опытном растворе, мг в 1 мл раствора

($C_{\text{гл}} = C_{\text{оп}} - C_{\text{гл}}^{(1)} - C_{\text{гл}}^{(2)}$);

V – объем инкубируемой жидкости (до фильтрования), мл;

V_a – объем аликвоты, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество, для торфа;

W – влажность торфа, %.

$$K = \frac{100}{100 - W}$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, водяная баня, штатив для пробирок, колбы с притертыми пробками на 50 мл, пробирки, пипетки на 1, 10 мл, фильтр белая лента.

Реактивы:

1. 8%-ный раствор сахарозы: 8 г сахарозы растворяют в 92 мл дистиллированной воды.

2. Фосфатный буфер с pH 4,9: к 90 мл 1/15 М KH_2PO_4 приливают 3 мл 1/15 М $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, проверяют значение pH. При необходимости изменения pH до требуемого значения приливают 0,1 н соляной кислоты или 0,1 н. КОН.

1/15 М Na_2HPO_4 : 11,876 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ растворяют в 1 л дистиллированной воды.

1/15 М KH_2PO_4 : 9,066 г KH_2PO_4 растворяют в 1 л дистиллированной воды.

0,1 н. КОН : 5,611 г КОН растворяют в 1 л дистиллированной воды.

0,1 н. HCl готовят из фиксанала.

3. Раствор 3,5-динитросалициловой кислоты: 0,5 г динитросалициловой кислоты растворяют в 20 мл 2 н. NaOH и 50 мл воды, добавляют 30 г сегнетовой соли, доводят объем до 100 мл дистиллированной водой.

Реактив готовится при комнатной температуре, хранится в темной склянке с притертой пробкой (его следует защищать от CO_2). **Срок хранения реактива не более 7 дней.**

4. Стандартные растворы глюкозы: глюкозу предварительно высушивают под вакуумом при 50-58 °С до постоянного веса. Навеску 0,5 г растворяют в 100 мл насыщенного раствора бензойной кислоты.

Титр стандартного раствора: 5 мг в 1 мл раствора.

Для построения калибровочной кривой в пробирки приливают от 0,05 до 1,2 мл стандартного раствора, 5 мл фосфатного буфера с рН 4,9; 3-5 каплей толуола, перемешивают. К 1 мл смеси приливают 2 мл реактива динитросалициловой кислоты, пробирки нагревают в кипящей бане 5 мин, охлаждают, через 10 – 20 мин объем смеси доводят до 10 мл, хорошо перемешивают и колориметрируют при длине волны 508 нм против холостого раствора.

Полученные результаты заносят в таблицу и по ним строят калибровочный график.

Данные для построения калибровочного графика, $V_{\text{общ}}=10$ мл

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем стандартного раствора, мл	0,05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2
Концентрация глюкозы, мг/мл	0,025	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Оптическая плотность								

Титр стандартного раствора глюкозы - 5 мг/мл.

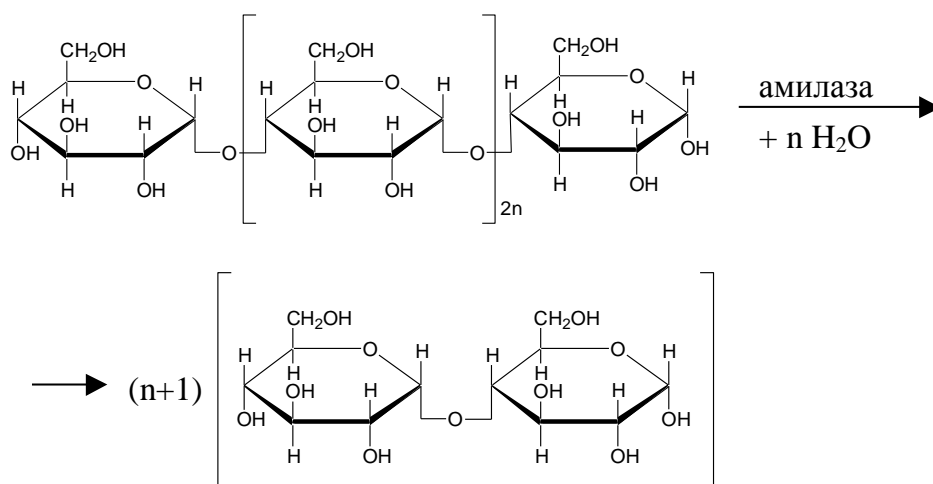
α- и β-Амилазы

(α-амилаза: 1,4-α-глюкан-глюканогидролаза. КФ 3.2.1.1);

β-амилаза: 1,4-α-глюкан-мальтогидролаза. КФ 3.2.1.2)

Определение активности амилазы торфов основано на измерении количества редуцирующих сахаров, образующихся при гидролизе крахмала в почве.

При определении активности амилазы в торфе в качестве субстрата применяют растворимые крахмалы, состоящие преимущественно из амилозы. Под действием β-



амилаз амилоза гидролизуется на мальтозу

Количество редуцирующих сахаров, по интенсивности накопления которых судят об амилазной активности торфа, представляет собой суммарное количество мальтозы и глюкозы.

Образующиеся при гидролизе крахмала редуцирующие сахара измеряют методами иодометрического титрования, по реакции восстановления меди (метод Бертрана) и колориметрическим методам с помощью динитросалициловой кислоты.

Ход анализа:

К навеске почвы 1 г приливают 5 мл 1%-ного раствора крахмала и 5 мл фосфатного буфера (рН 5,6), несколько капель толуола, тщательно перемешивают и ставят в термостат на 24 ч при 30 или 37 °С. После инкубации суспензию фильтруют. Редуцирующие сахара определяют видоизмененным методом Бернфельда (Bernfeld, 1955). Для этого в пробирку набирают 1 мл раствора, приливают 2 мл динитросалициловой кислоты и смесь нагревают в кипящей водяной бане в течение 5 мин. Затем пробирку со смесью сразу охлаждают под струей водопроводной воды, конечный объем смеси доводят до 10 мл, хорошо перемешивают и колориметрируют при 508 нм (зеленый светофильтр).

Для контроля используют те же компоненты, что и в опыте, только после прибавления к почве субстрата содержимое колбы тщательно взбалтывают, фильтруют и сразу определяют количество мальтозы по стандартной кривой, составленной на чистую мальтозу.

Активность амилазы выражают в миллиграммах мальтозы на 1 г почвы за 24 ч.

Реактивы:

- 1) 1%-ный крахмал.
- 2) Толуол.
- 3) 0,1 М фосфатный буфер (рН 5,6).
- 4) Раствор 3,5-динитросалициловой кислоты.
- 5) Стандартные растворы мальтозы ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$) в концентрации от 0,02 до 2 мг в 1 мл. Для составления калибровочной кривой в пробирки набирают по 1 мл растворов и производят их окрашивание, как описано выше.

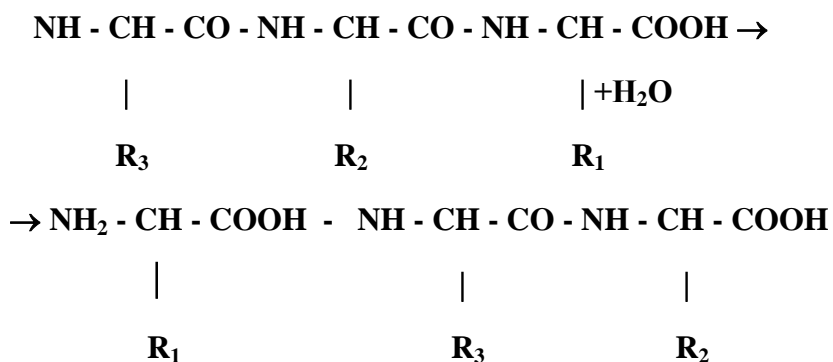
4.2. ПЕПТИД- И АМИДОГИДРОЛАЗЫ

Протеолитическая активность

(пептидил-пептидгидролазы, КФ 3.4.4)

Протеазы катализируют гидролитическое расщепление таких белковых веществ как казеин, желатин, пептон, дипептиды до пептидов и гидролиз пептидов до аминокислот. Расщепление белков и пептидов происходит по месту пептидных связей по следующей схеме:

протеаза



При определении протеолитической активности почв в качестве субстрата обычно применяют растворы казеина, желатина и некоторых пептидов.

Метод Лада и Батлера [Ladd, Butler, 1972] основан на учете количества аминокислот, образующихся при гидролизе белков, путем связывания их в окрашенные комплексы с реактивом Фолина.

Протеолитическую активность необходимо определять в торфах во влажном состоянии.

Ход анализа:

0,5 г сырого торфа помещают в колбочки на 50 мл, приливают 10 мл 1%-ного раствора казеина в трис-НС1-буфере с рН 8,1-8,2. Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 0,5 г торфа + 10 мл трис-НС1-буфера;
- 2) 10 мл 1%-ного раствора казеина в трис-НС1-буфере без торфа.

В смеси добавляют по 3-4 капли толуола, плотно закрывают пробками и после полного смачивания почвы помещают в термостат при температуре 37 °С на 18 ч. После экспозиции содержимое колб охлаждают до комнатной температуры в течение 10-15 мин, приливают 5 мл 15%-ной трихлоруксусной (ТХУ) кислоты, оставляют стоять на 30 мин для прекращения ферментативной реакции, затем фильтруют в пробирки. 1 мл фильтрата переносят в другую пробирку, добавляют 1 мл 5%-ной ТХУ, тщательно перемешивают, приливают 3 мл 2,8 н. Na₂CO₃, перемешивают, затем приливают 1 мл 1н. реактива Фолина.

При наличии осадка, после окрашивания раствором Фолина рекомендуется фильтровать вытяжку через плотный фильтр (синяя лента) или центрифугировать.

Необходимо, чтобы фильтрование было осуществлено в те 15 мин, которые предусмотрены на развитие окраски.

Колориметрируют растворы через 15 мин на фотоколориметре при длине волны 700 нм в кювете 5 мм.

Измерения проводят против холостого опыта: 1 мл дист. воды приливают в пробирку, добавляют 1 мл 5%-ной ТХУ, 3 мл 2,8 н. Na₂CO₃, 1 мл реактива Фолина и тщательно перемешивают смесь.

При расчетах из оптической плотности опытных растворов вычитают сумму оптических плотностей обоих контролей: почвы в буферном растворе и раствора казеина без почвы.

По вычисленной оптической плотности анализируемых растворов находят концентрацию тирозина (C_{тир}) по калибровочной кривой.

Протеолитическую активность выражают в мг тирозина за 18 ч на 1 г торфа и определяют по формуле:

$$A = \frac{C_{\text{тир}} \cdot V \cdot k \cdot 6}{m \cdot V_a},$$

где **A** – потенциальная протеолитическая активность торфа, мг тирозина за 18 часов на 1 г торфа;

C_{тир} – концентрация тирозина в анализируемом растворе, мг тирозина в 1 мл раствора;

V – объем инкубируемой жидкости (до фильтрования), мл;

V_a – объем аликвоты, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %

$$K = \frac{100}{100 - W}.$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, штатив для пробирок, колбы с притертыми пробками на 50 мл, пробирки, пипетки на 1, 5, 10 мл, , фильтр белая и синяя лента.

Реактивы:

1. Трис-НС1-буфер с рН 8,1 – 8,2.

Смешивают 50 мл 0,2 М раствора триса с 21,9 мл 0,2 М раствора соляной кислоты и доводят объем смеси до 100 мл дистиллированной водой. рН полученного трис-НС1-буфера должно быть 8,1 – 8,2. При необходимости рН снижают или повышают добавлением 0,2 н. раствора НС1 или триса.

0,2 н.НС1: содержимое ампулы 0,1 н. НС1 разбавляют дистиллированной водой до 500 мл.

0,2 М раствор триса: 6,057 г тригидроксиметиламинометана растворяют в дистиллированной воде до 250 мл. рН триса = 10,9 – 10,8.

2. 1% раствор казеина: к 1 г казеина влить немного раствора триса, оставить набухать на 1 ч (всего триса нужно 50 мл). Постепенно подливая трис, нагреть на водяной бане (не доводить до кипения) при перемешивании до полного растворения казеина, затем добавить 21,9 мл 0,2 М НС1 и довести объем смеси до 100 мл дистиллированной водой (рН смеси = 8,1 – 8,2).

3. 15%-ный раствор ТХУ: 15 г ТХУ растворяют в воде и доводят объем до 100 мл.

4. 2,8 н. раствор Na_2CO_3 : 74,18 г Na_2CO_3 растворяют при подогревании и доводят объем до 500 мл.

5. Приготовление реактива Фолина.

В круглодонную колбу помещают 100 г $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, приливают 700 мл дист. воды, 25 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 50 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и 100 мл концентрированной соляной кислоты.

К колбе подключают обратный холодильник, кипятят смесь 10 ч непрерывно. Снимают холодильник, добавляют в горячий раствор 150 г сернокислого лития, 50 мл дист. воды и 5 капель бромной воды. Смесь кипятят под тягой 15 мин, охлаждают, разбавляют дистиллированной водой до 1 л, фильтруют (фильтрат имеет желтовато-золотистый цвет) и хранят в темной склянке с притертой пробкой. Этот реактив может храниться длительное время.

Для определения нормальности реактив Фолина разводят в 2,5 раза (2 мл реактива + 3 мл дист. воды). К 1 мл реактива прибавляют 1 каплю фенолфталеина (1%-ного раствора в 60%-ном этиловом спирте) и титруют 0,1 н. раствором щелочи. По формуле $N_{\text{щ}} V_{\text{щ}} = N_{\text{ф}} V_{\text{ф}}$ определяют нормальность ($N_{\text{ф}}$) реактива Фолина. **В день определения протеолитической активности реактив разводят дистиллированной водой таким образом, чтобы получить 1 н. раствор по кислоте.**

6. Стандартный раствор для построения калибровочной кривой: 100 мг Д-тирозина растворяют в 20 мл 1%-ного раствора ТХУ при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят дистиллированной водой до 100 мл. Титр стандартного раствора – 1 мг Д-тирозина на 1 мл раствора.

Рабочий раствор: 1,5 мл стандартного раствора Д-тирозина разбавляют 5%-ным раствором ТХУ до 15 мл. Титр рабочего раствора – 0,1 мг/мл.

Для построения калибровочной кривой в пробирки приливают от 0,1 до 1 мл рабочего раствора, добавляют от 1,9 до 1 мл 5%-ного раствора ТХУ, 3 мл 2,8 н. раствора Na_2CO_3 и 1 мл реактива Фолина. Смесь тщательно перемешивается и колориметрируется на фотоколориметре при длине 700 нм.

Данные заносят в таблицу и строят калибровочный график зависимости оптической плотности растворов от концентрации Д-тирозина.

Данные для построения калибровочного графика, $V_{\text{общ}} = 6$ мл

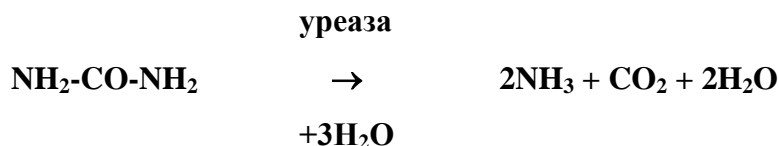
N, п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем рабочего раствора, мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,2
Концентрация Д-тирозина, мг/мл 10^{-3}	1,7	3,4	5,0	6,7	8,3	10,0	11,7	13,3	15,0	16,7
Оптическая плотность										

Титр рабочего раствора 0,1 мг Д-тирозина на 1 мл раствора.

Уреазная активность

(мочевина-амидогидролаза. КФ 3.5.1.5)

С действием уреазы связаны процессы гидролиза и превращения в доступную форму азота мочевины. Конечными продуктами гидролиза являются аммиак и углекислый газ:



Метод И.Н. Ромейко и С.М. Малинской [1963], модифицированный сотрудниками лаборатории почвенной энзимологии Института ботаники НАНБ, основан на измерении количества аммиака, образующегося при гидролизе мочевины, путем связывания его в окрашенные комплексы с реактивом Несслера.

Уреазную активность необходимо определять в торфах во влажном состоянии.

Ход анализа:

0,5 г сырого торфа помещают в колбочки с притертыми пробками емкостью 100 мл, приливают 20 мл 2%-ного раствора мочевины в фосфатном буфере с рН 6,7.

Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 0,5 г торфа + 20 мл фосфатного буфера;
- 2) 20 мл 2%-ного раствора мочевины в фосфатном буфере.

В смеси добавляют по 3-4 капли толуола, плотно закрывают колбочки пробками и после полного смачивания почвы помещают в термостат при температуре 37 °С на 4 ч. После экспозиции содержимое колб охлаждают до комнатной температуры, приливают 1 мл 50%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Тщательно перемешивают, выдерживают 5 мин для прекращения ферментативной реакции. Затем для вытеснения из почвы поглощенного аммиака доливают 50 мл 1 н. КСl (с рН 5,6- 6,0). Содержимое колб встряхивают 3 мин и фильтруют. 2 мл фильтрата помещают в мерную колбу на 50 мл, приливают примерно 30 мл дистиллированной воды, добавляют 2 мл 50%-ного раствора сегнетовой соли, перемешивают, приливают 2 мл реактива Несслера, опять перемешивают, доводят дистиллированной водой до метки и еще раз перемешивают.

Колориметрируют растворы через 15 мин на фотоколориметре с синим светофильтром при длине волны 400 нм в кювете 10 мм.

Измерения проводят против холостого раствора: 2 мл дистиллированной воды помещают в мерную колбу на 50 мл, добавляют 2 мл 50%-ного раствора сегнетовой соли, перемешивают, приливают примерно 30 мл дистиллированной воды, добавляют 2 мл реактива Несслера, перемешивают, доводят до метки водой и снова перемешивают.

При расчетах из оптической плотности опытных растворов вычитают сумму оптических плотностей обоих контролей: почвы в буферном растворе и раствора мочевины без почвы.

По вычисленной оптической плотности анализируемых растворов находят концентрацию N – NH₄ по калибровочной кривой.

Активность уреазы выражают в мг N-NH₄ на 1 г сухого торфа за 4 ч и вычисляют по формуле

$$A = \frac{C_{N-NH_4} \cdot V \cdot k \cdot 50}{m \cdot V_a},$$

где A – потенциальная уреазная активность, мг N-NH₄ за 4 ч на 1 г торфа;

C_{N-NH_4} – концентрация N-NH₄ в опытном растворе, мг в 1 мл раствора

($C_{гл} = C_{оп} - C_{гл}^{(1)} - C_{гл}^{(2)}$);

V – объем инкубируемой жидкости (до фильтрования), мл;

V_a – объем аликвоты, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество, для торфа;

W – влажность торфа, %.

$$K = \frac{100}{100 - W}$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, колбы с притертыми пробками на 100 мл, колбы на 100 мл, мерные колбы на 50 мл, пипетки на 1, 2, 10 мл, фильтр белая лента.

Реактивы:

Для приготовления растворов следует использовать безаммиачную дистиллированную воду. К дистиллированной воде прибавляют х.ч. соду до слабощелочной реакции и упаривают раствор на 1/3 объёма. Проверяют воду на содержание аммиака и хранят в бутылки с тубусом. В пробку бутылки вставляют хлоркальциевую трубку, заполненную кристаллами NaHSO₄.

1. Фосфатный буфер с рН 6,7 : 216 мл раствора Na₂HPO₄ смешивают с 284 мл раствора KH₂PO₄. Проверяют рН смеси. При необходимости доводят рН до 6,7 0,1 растворами H₃PO₄ или КОН.

1/15 М Na₂HPO₄ : 9,466 г безводной соли Na₂HPO₄ или 23,86 г водной соли Na₂HPO₄ * 12H₂O растворяют в 1 л дистиллированной воды.

1/15 М KH₂PO₄ : 9,066 г KH₂PO₄ растворяют в 1 л дистиллированной воды .

2. 2 %-ный раствор мочевины: 2 г мочевины растворяют в 100 мл фосфатного буферного раствора с рН 6,7. **Раствор мочевины готовят в день постановки опыта.**

3. 50%-ный раствор трихлоруксусной кислоты: 50 г ТХУ кислоты растворяют до 100 мл водой дистиллированной.

4. 1 н KCl : 74,55 г KCl растворяют в 1 л дистиллированной воды (рН готового раствора должен быть 5,6-6,0).

5. 50%-ный раствор сегнетовой соли (калий-натрий-виннокислый): 50 г соли растворяют до 100 мл дистиллированной водой (Примечание: если сегнетовая соль загрязнена N-NH₄, то в приготовленный раствор соли приливают 1 мл реактива Несслера. После осаждения осадка сливают прозрачный раствор и используют его для анализа).

6. Реактив Несслера.

7. Стандартный раствор для построения калибровочной кривой:

Для приготовления стандартного раствора берут хлористый аммоний 0,7405 г NH₄Cl х.ч или осч. растворяют в мерной колбе на 1 л дистиллированной воды. 10 мл этого раствора разводят водой до 500 мл. Титр рабочего раствора 0,005 мг NH₄⁺ (или 0,0039 мг) в 1 мл. Для построения калибровочной кривой в мерные колбочки на 50 мл берут от 0,5 до 9 мл рабочего раствора и добавляют те же реактивы, что и в опытных, и колориметрируют против холостого раствора. Полученные данные заносят в таблицу и по ним строят калибровочную кривую зависимости оптической плотности от концентрации NH₄⁺ или N.

Данные для построения калибровочного графика, V_{общ} = 50 мл

N, п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем рабочего раствора, мл	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация аммонийного Азота мг/мл 10 ⁻³	2,5	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Концентрация N, мг/мл 10 ⁻³	1,95	3,9	7,8	12	16	20	23	27	31	35
Оптическая плотность										

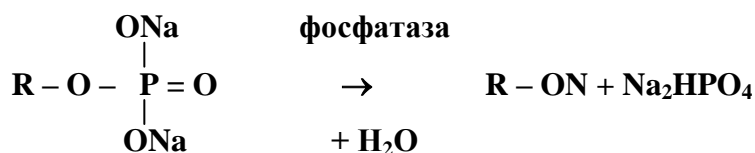
Титр рабочего раствора – 0,005 мг/мл аммонийного азота, или 0,0039 мг/мл N.

4.3. ФОСФОГИДРОЛАЗЫ

Фосфатазная активность

(фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты. КФ 3.1.3.1-2)

Фосфатаза катализирует гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты (глицерофосфатов, сахарофосфатов и др.) с отщеплением остатков ортофосфорной кислоты:



Оптимальной реакцией фосфатазной активности в почве является рН 5,4 (кислая фосфатаза), 7,0 (нейтральная фосфатаза) и 10,0 (щелочная фосфатаза).

Метод определения фосфатазной активности торфов основан на отщеплении ортофосфата из глицерофосфата натрия, превращении ортофосфата сначала в фосфорно-молибденовую кислоту в кислой среде, а затем в восстановлении этой кислоты в присутствии избытка молибдата до синего фосфорно-молибденового комплекса, количество которого измеряется колориметрически.

Ход анализа:

0,2 г воздушно-сухого торфа помещают в колбочки на 50 мл с притертыми пробками, добавляют 5 мл буфера с рН 5,0 и 10 мл 0,22%-ного раствора глицерофосфата натрия. Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 0,2 г торфа + 5 мл буфера + 10 мл дистиллированной воды;
- 2) 5 мл буфера + 10 мл 0,22%-ного раствора глицерофосфата натрия.

В смеси добавляют по 5 капель толуола, плотно закрывают колбочки пробками и после полного смачивания почвы помещают в термостат на 24 ч при 30 °С. После экспозиции содержимое колб охлаждают до комнатной температуры, приливают 3 мл 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты для прекращения действия фермента, тщательно перемешивают, выдерживают 5 мин, затем отфильтровывают. Для извлечения поглощенного минерального фосфора почву промывают 5 мл 10%-ного раствора соляной кислоты (несколькими порциями по 1-2 мл). 2 мл фильтрата переносят в мерные колбочки на 50 мл, приливают 4 мл 2,5%-ного раствора молибденовокислого аммония, перемешивают, добавляют 2 мл эйкогена, доводят до метки. Через 20-30 мин колориметрируют растворы на фотоколориметре, светофильтр красный.

Растворы доводят до метки дистиллированной водой и еще раз перемешивают. Измерения проводят против холостого раствора: 2 мл дист. воды помещают в мерную колбу на 50 мл, добавляют 4 мл 2,5%-ного раствора молибденовокислого аммония, перемешивают, добавляют 2 мл эйкогена, перемешивают, доводят до метки дистиллированной водой и еще раз тщательно перемешивают.

При расчетах из оптической плотности опытных растворов вычитают сумму оптических плотностей обоих контролей: торфа в буферном растворе, глицерофосфата натрия в буфере без торфа. По вычисленной оптической плотности опытных растворов находят концентрацию фосфора (Ср) по калибровочной кривой.

Фосфатазную активность почвы определяют по формуле:

$$A = \frac{C_p \cdot V_1 \cdot k \cdot V_2}{m \cdot V_a},$$

где **A** – потенциальная фосфатазная активность почвы, мг Р за 24 часа на 1 г торфа;

C_p – концентрация фосфора (Р) в анализируемом растворе, мг Р в 1 мл раствора;

V₁ – объем инкубируемой жидкости с учетом раствора для промывания, мл;

V₂ – объем окрашенного раствора, мл;

V_a – объем аликвоты, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %;

$$K = \frac{100}{100 - W}.$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, колбы с притертыми пробками на 50 мл, колбы мерные на 50 мл, пипетки на 1, 5, 10 мл, фильтр белая лента.

Реактивы:

1. Буфер с рН 5,0 : к 23,85 мл 0,1 н. раствора NaOH приливают 50 мл бифталата калия и доводят раствор дистиллированной водой до 100 мл.

0,1 н. раствор NaOH : 4 г NaOH растворяют в 96 мл дистиллированной воды;

0,1 М раствор бифталата калия: 20,4 г бифталата калия растворяют в 1 л дист. воды.

2. 0,22%-ный раствор глицерофосфата натрия: 0,220 г глицерофосфата натрия растворяют в 100 мл дист. воды [глицерофосфат натрия = динатрий-1-глицерофосфат, α-глицерофосфорной кислоты динатриевая соль $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{Na}_2$]

3. 10%-ный раствор трихлоруксусной кислоты: 10 г ТХУ растворяют 90 мл дист. воды.

4. 10%-ный раствор аммония молибденовокислого: 2,5 г соли растворяют в 100 мл дист. воды (при необходимости можно подогреть).

5. Приготовление эйкогена (фотографический проявитель, представляет собой 1-амино-β-нафтол-4-сульфо кислоту):

7,5 г метабисульфита ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) растворяют в 100 мл дист. воды. В 98 мл раствора растворяют 0,25 г эйкогена, добавляют 2 мл 20%-ного сульфита натрия (1 г на 5 мл). Если реактив светлеет, значит эйкоген растворяется. В случае если эйкоген не растворяется, добавляют 0,5 мл сульфита натрия (максимальное количество – 3 мл).

Раствор фильтруют через фильтр синей ленты в цилиндр. К фильтрату добавляют дист. воды в объеме, равном S объема фильтрата. Раствор хранится в темной посуде с притертой пробкой (срок хранения 2 недели). Лучше хранится, если не приливать дист. воду. Раствор эйкогена должен быть бесцветным или лишь слегка окрашенным.

Перекристаллизация эйкогена по Фиксе-Суббароу:

Нагревают 1 л дист. воды до 90 °С и растворяют в ней 150 г бисульфита натрия (NaHSO_3) или 137 г метабисульфита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) и 10 г кристаллического сульфита натрия ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). К этой смеси прибавляют 15 г неочищенного эйкогена и встряхивают, пока не растворится, за исключением аморфных примесей. Фильтруют горячий раствор через бумажный фильтр ($d = 32$ см). Охлаждают под краном, фильтруют и прибавляют 10 мл концентрированной соляной кислоты. Еще раз фильтруют с отсасыванием, промывают 300 мл дист. воды и, наконец, спиртом (600 мл) до обесцвечивания промывных вод. Высушивается эйкоген на воздухе, защищенном от света, и хранится в темной склянке.

6. Стандартный раствор для построения калибровочной кривой.

0,1404 г перекристаллизованного KH_2PO_4 растворяют в 200 мл дист. воды. Полученный раствор имеет титр 0,16 мг Р на 1 мл или 160 γ Р на 1 мл раствора.

Рабочий раствор: 20 мл стандартного раствора разбавляют в мерной колбе до 200 мл дист. водой. Титр рабочего раствора равен 0,016 мг Р на 1 мл раствора.

Для построения калибровочной кривой в мерные колбочки на 50 мл приливают 0,5 – 15 мл рабочего раствора, добавляют 4 мл 2,5%-ного раствора молибденовокислого аммония, перемешивают, приливают 2 мл раствора эйкогена, доводят до метки дист. водой и еще раз перемешивают. Через 20-30 мин растворы колориметрируют на фотоколориметре, с красным светофильтром. Показания прибора заносят в таблицу и строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации фосфора (Р).

Данные для построения калибровочного графика, $V = 50$ мл.

№, п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Объем рабочего	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12,5

раствора, мл												
Концентрация, $P \cdot 10^{-4}$, мг/мл	1,6	3,2	6,4	9,6	12,8	16,0	19,2	22,4	25,6	28,8	32,0	40,0
Оптическая плотность												

Титр рабочего раствора – 0,016 мг/мл Р.

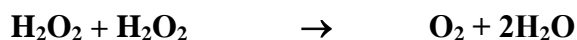
4.4. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ

Каталазная активность

($H_2O_2:H_2O_2$ -оксидоредуктаза. КФ 1.11.1.6)

Каталаза катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород:

каталаза



Методы определения каталазной активности почв основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой.

Газометрический метод определения каталазной активности почв основан на определении объема кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода при 16-18 °С.

Каталазник Ю.В. Круглова и Л.Н. Пароменской [1966] представляет собой коническую колбу на 100 мл. В резиновую пробку каталазника монтируют пробирку

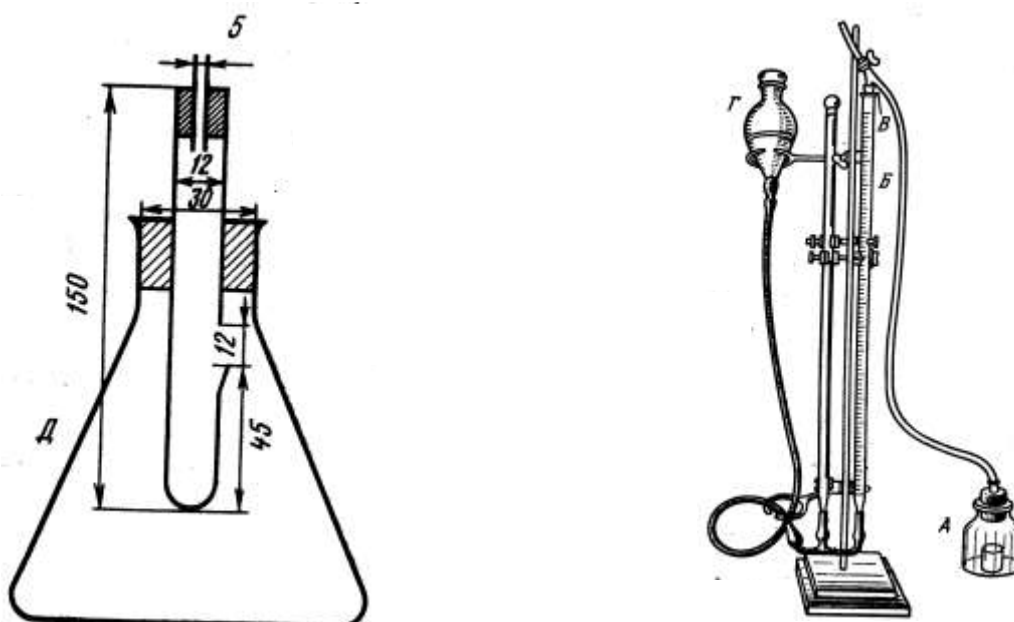


Рис. 2. Схема прибора для газометрического определения каталазной активности.

высотой 150 мм, диаметром 10-12 см, с отверстием 10-12 мм на высоте 45-50 мм. Нижний край отверстия оттянут на 3-4 мм в виде носика. Верхнюю часть пробирки закрывают резиновой пробкой со стеклянной трубкой диаметром 4-5 мм, которую соединяют через резиновый шланг с измерительной бюреткой газометра, заполненной 5%-ной серной кислотой (рис. 2).

Ход анализа:

В колбу каталазника емкостью 100 мл (рис. 2а.) вносят 0,5 г воздушно-сухого торфа, приливают 5 мл трисбуфера (рН 7,2) и добиваются полного смачивания встряхиванием в течение 2 мин. В пробирку каталазника через боковое отверстие пипеткой наливают 5 мл 3%-ной перекиси водорода. Пробирку с пробкой плотно вставляют в горлышко колбы и подсоединяют к измерительной бюретке газометра. Устанавливают уровни 5 %-ной серной кислоты в бюретках на нуле. Перекрывают сообщение прибора с внешней средой. Проверяют герметичность прибора. Затем, наклоняя каталазник, сливают перекись водорода из пробирки, колбу ставят на магнитную мешалку и засекают время начала реакции.

Выделяющийся кислород вытесняет из бюреток 5 %-ную серную кислоту, уровень которой отмечают через каждую минуту в течение 2 мин.

После окончания опыта пробку с пробиркой вынимают из колбы, ополаскивают, если это необходимо, дистиллированной водой пробирку, и процедуру повторяют со следующей подготовленной колбой. **Если температура в помещении выше или ниже 16-18 °С, то колбы после приливания к торфу трис-буфера помещают в водяную баню или термостат и выдерживают при 16-18 °С 30 мин, затем анализ продолжают, как описано выше.**

Метод А.Ш. Галстяна [1956]

Ход анализа:

Навеску 0,5 г почвы вносят в колбу А каталазника (рис. 2, б) ёмкостью 100 мл, добавляют 0,5 г СаСО₃, на дно колбы осторожно с помощью пинцета ставят маленький стаканчик или фарфоровый тигель с 5 мл 3%-ного раствора перекиси водорода. Колбу плотно закрывают каучуковой пробкой со стеклянной трубкой, которая соединена с измерительной бюреткой (Б) с помощью толстостенного резинового шланга через тройник (В) (рис.2, б). Две бюретки с помощью резинового шланга соединяют через тройник с уравнивательной грушевидной воронкой (Г). Бюретки и грушу заполняют водой. Уровень воды в бюретках и груше уравнивают, опуская или поднимая грушу, последнюю закрепляют на определенной высоте. Затем закрывают тройник таким

образом, чтобы устранить сообщение прибора с внешней средой. Необходимо поддерживать определенный уровень воды в бюретках, это свидетельствует о достижении температурного равновесия в приборе. Опыт проводят при температуре 18-20 °С. Используют водяной термостат.

Начало опыта отмечают по секундомеру в тот момент, когда сосуд с перекисью опрокидывают и содержимое колбы встряхивают. Взбалтывание смеси проводят в течение всего опыта, не касаясь колбы руками, держа ее за пробку. Выделяющийся кислород вытесняет из бюретки воду, уровень которой отмечают через 0,5; 1 и 2 мин.

Контролем служит стерилизованная сухим жаром (180°) почва.

Параллельно определяют неферментативную каталазную активность. Для этого торф готовят следующим образом: в бюксы помещают такую же навеску торфа, как и при определении общей каталазной активности и стерилизуют сухим жаром при 180 °С в течение 2 ч [Хазиев, 1990]. Затем анализ повторяют, как описано выше.

Каталазную активность выражают в мл O_2 , выделившегося за 1 или 2 мин на 1 г торфа.

Оборудование: каталазник, весы, магнитная мешалка, стерилизатор.

Реактивы:

1. 3%-ный раствор перекиси водорода готовится разбавлением 10 мл 30%-ного раствора H_2O_2 до 100 мл дист. водой. Концентрацию пергидроля проверяют периодически, рабочий раствор готовят непосредственно перед анализом.

Для установления концентрации пергидроля на аналитических весах в мерной колбе ёмкостью 100 мл взвешивают 1 г H_2O_2 , объём доводят до метки и взбалтывают. Берут 20 мл полученного раствора в конические колбы 250 мл (3 повторности), добавляют 50 мл дистиллированной воды и 2 мл 20%-ной H_2SO_4 . Затем титруют 0,1 н. $KMnO_4$. 1мл 0,1 н. $KMnO_4$ соответствует 0,0017008 г H_2O_2 . После установления концентрации пергидроля готовят 3%-ный раствор разбавлением водой.

2. Трис-буфер (рН 7,2): к 25 мл 0,2 М раствора трис-буфера приливают 45 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты и доводят объём дистиллированной водой до 100 мл.
3. 0,2 М раствора трис-буфера: 2,423 г тригидроксиметиламинометана [$H_2NC(CH_2OH)_3$; М.м.= 121,14 г] растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

Дегидрогеназная активность

При отсутствии этилового спирта можно использовать ацетон (экстрагирование проводить в вытяжном шкафу). Отработанный раствор ацетона очищают от примесей ТФФ путем перегонки, поэтому один и тот же объем ацетона можно использовать многократно.

Экстракцию ТФФ следует проводить в защищенных от света колбочках: на свету окраска быстро исчезает. Для этого можно использовать любую картонную коробку, в крышке которой проделывают отверстия для узкой части колб. Колбы помещают в коробку, накрывают крышкой и проводят экстрагирование (рис.3).

Дегидрогеназную активность выражают в мг ТФФ на 1 г торфа за 24 ч и производят по формуле

$$A = \frac{(C_{T+гл} - C_{T+в} - C_{ТТФ}) \cdot V \cdot k \cdot 10}{m},$$

где **A** – потенциальная дегидрогеназная активность торфа, мг ТФФ на 1 г торфа за 24 ч;

C_{T+гл} – концентрация формазана, после инкубации торфа с глюкозой, мг/ мл;

C_{T+в} – концентрация формазана, после инкубации торфа без глюкозы, мг/ мл;

C_{ТТФ} – концентрация формазана, после инкубации ТТФ без торфа, мг/ мл;

V – объем спиртового экстракта формазана, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %;

$$K = \frac{100}{100 - W}.$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, вытяжной шкаф, вакуумный эксикатор, насос, колбы с притертыми пробками на 50 мл, колбы мерные на 50 мл, пипетки на 1, 10 мл, фильтр белая лента.

Рис. 3. Вакуумная колба для определения активности дегидрогеназ в торфе



Реактивы:

1. 1%-ный раствор 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ): 1 г ТТХ растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
2. CaCO_3 .
3. Этиловый спирт или ацетон.
4. 2%-ный раствор глюкозы: 2 г глюкозы растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
5. Раствор ТТХ, имеющий титр 1 мг/мл.
6. Стандартный раствор формазана. К 2 мл раствора ТТХ, имеющего титр 1 мг/мл, в качестве восстановителя добавляют на кончике ланцета кристаллический гидросульфит натрия (NaHSO_3), сульфит аммония ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$) или пыль металлического цинка в присутствии глюкозы. Выпавший осадок формазана извлекают 10 мл этилового спирта или ацетона. В этом объеме спирта или ацетона содержится 2 мг формазана. Титр спиртового или ацетонового раствора формазана равен 0,2 мг/мл.

Рабочие растворы формазана для построения калибровочной кривой получают разведением спиртом или ацетона стандартного раствора формазана ($T = 0,2$ мг/мл) для получения растворов, содержащих от 0,2 до 0,01 мг/мл формазана и колориметрируют с синим светофильтром. Полученные результаты заносят в таблицу и строят калибровочный график зависимости оптической плотности растворов от концентрации формазана.

Данные для построения калибровочного графика, $V_{\text{общ}} = 50$ мл

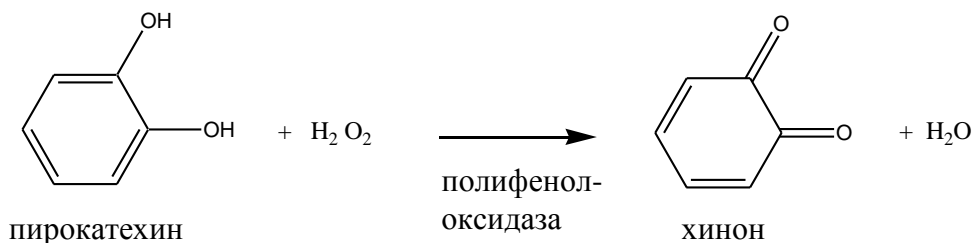
N, п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Объем рабочего раствора, мл	2,5	5	7,5	10	12,5	20	25	37,5	50
Концентрация формазана, мг/мл	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,08	0,10	0,15	0,20
Оптическая плотность									

Титр рабочего раствора формазана – 0,2 мг/мл.

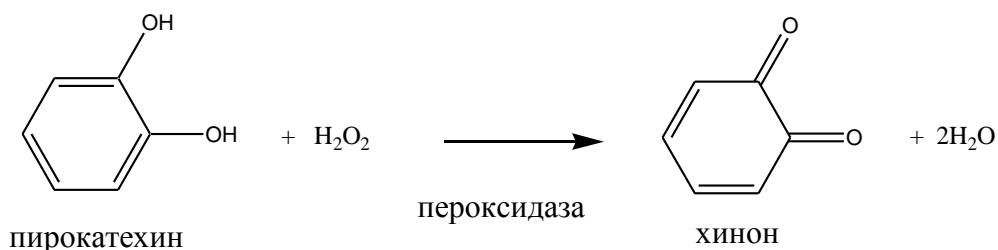
Полифенолоксидазная и пероксидазная активности.

(о-дифенол: кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.1) и (донор: H₂O₂-оксидоредуктаза. КФ 1.11.1.7)

Полифенолоксидаза катализирует окисление фенолов (моно-, ди-, три-) до хинонов в присутствии кислорода воздуха по схеме



Пероксидаза катализирует окисление органических веществ почв (моно-, ди-, три- фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода и других органических перекисей. Под действием кислорода перекиси при участии пероксидазы полифенолы окисляются и переходят в хиноны:



Метод Л.А.Карягиной, Н.А.Михайловской [1986] основан на измерении скорости окисления гидрохинона кислородом воздуха по интенсивности окраски образующегося хинона.

Ход анализа:

0,1 г в.-с. или 0,2-0,3 г сырого торфа помещают в коническую колбу на 50 мл с притертыми пробками. Колбы расставляют в два ряда:

1-й ряд. Полифенолоксидаза: приливают 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл 1%-ного раствора гидрохинона.

2-й ряд. Пероксидаза: приливают 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл 1%-ного раствора гидрохинона + 1 мл 0,5%-ного раствора перекиси водорода.

Параллельно готовят контрольные образцы.

Для полифенолоксидазной активности:

- 1) 0,1 г торфа + 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл дистиллированной воды;
- 2) 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл 1%-ного раствора гидрохинона;

Для пероксидазной активности:

- 1) 0,1 г торфа + 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл дистиллированной воды;
- 2) 1 мл фосфатного буфера (рН = 5,8) + 10 мл 1%-ного раствора гидрохинона + 1 мл 0,5%-ного раствора перекиси водорода.

Содержимое колб встряхивают, ставят в термостат на 35 мин при температуре 30 °С. После инкубации в колбы добавляют по 10 мл этилового спирта, перемешивают и отфильтровывают раствор через плотный фильтр. При наличии мутного фильтрата фильтрование повторяют. Фильтрат спиртовой вытяжки колориметрируют со светофильтром с длиной волны 430 нм.

Активность полифенолоксидазы, пероксидазы выражают в мг хинона за 30 мин на 1 г торфа. Полифенолоксидазную активность торфа определяют по формуле

$$A = \frac{(C_{T+S} - C_{T+B} - C_s) \cdot k \cdot 10}{m},$$

где **A** – потенциальная полифенолоксидазная активность торфа, мг 1,4-п бензохинона за 30 мин. на 1 г торфа;

C_{T+S} - концентрация 1,4п-бензохинона, мг/мл спиртового раствора, после инкубации торфа с субстратом, мг/ мл;

C_{T+B} - концентрация 1,4п-бензохинона, мг/мл спиртового раствора, после инкубации торфа без субстрата, мг/ мл;

C_s - концентрация 1,4п-бензохинона, мг/мл спиртового раствора, после инкубации субстрата без торфа, мг/ мл;

10 – объем спиртового экстракта 1,4п-бензохинона, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %;

$$K = \frac{100}{\dots}$$

100 – W

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, колбы с притертыми пробками на 50 мл, воронки, пипетки на 1, 10 мл, фильтр синяя лента.

Реактивы:

1. 1%-ный раствор гидрохинона: 1 г гидрохинона растворяют в 100 мл дистиллированной воды;
2. Этиловый спирт
3. 0,5%-ный раствор перекиси водорода: 1 мл 30%-ной перекиси водорода разбавляют до 60 мл дистиллированной водой.
4. Буфер с pH 5,8: к 60,45 мл 0,2 М раствора $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ приливают 39,55 мл 0,1 М раствора лимонной кислоты. **Желательно готовить буфер в день определения.**
5. 0,2 М раствор $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: 7,16276 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
6. 0,1 М раствор лимонной кислоты: 1,9213 г лимонной кислоты растворить в 100 мл дист. воды.
7. Стандартный раствор хинона: 200 мг хинона помещают в мерную колбу на 100 мл, растворяют в 20 мл этилового спирта и доводят дистиллированной водой до метки. Титр раствора: 2 мг/мл. Рабочие растворы: аликвоты берут в мерные колбы на 25 мл и доводят водой до метки. Через 20-30 мин растворы колориметрируют на фотоколориметре. Показания прибора заносят в таблицу и строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации 1,4 п-бензохинона.

Данные для построения калибровочного графика

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Объем стандартного раствора, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Концентрация хинона, мг/мл	0,08	0,16	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56	0,64	0,72	0,80	0,88
Оптическая плотность											

Титр стандартного раствора - 2 мг/мл.

Определение пероксидазы. Метод А.Ш. Галстяна [1974]

Ход анализа:

Один грамм торфа помещают в мерные колбы ёмкостью 50 мл с притёртыми пробками, затем вносят 10 мл 1%-ного раствора пирогаллола и 2 мл 0,5%-ной перекиси водорода. Содержимое колб встряхивают, и колбы ставят в термостат на 30 мин при 30 °С. Образовавшийся пурпургаллин извлекают серным эфиром, для этого в колбы после инкубации доливают до метки эфир, энергично взбалтывают несколько раз и окрашенную эфирную фазу смеси, содержащую растворённый пурпургаллин, колориметрируют через 24 ч. При колориметрировании эфирного раствора пурпургаллина используют кюветы толщиной 5 мм и светофильтр с длиной волны 430 нм.

Для внесения корректива на эфирорастворимые органические вещества торфа и чистоту пирогаллола ставят контроли – почва без субстратов и субстраты без почвы соответственно. В контроле – почва без субстрата – почву инкубируют с 12 мл воды.

Количество пурпургаллина находят по стандартной кривой, составленной с бихроматом калия.

Активность пероксидазы выражают в миллиграммах пурпургаллина на 100 г почвы за 30 мин.

Реактивы:

1. 1%-ный раствор 1,2,3-пирогаллола.
2. 0,5%-ный раствор H_2O_2 .
3. Серный эфир.
4. 0,5 н. HCl.
5. Стандартный раствор бихромата калия – 0,75 г K_2CrO_7 в 1 л 0,5 н. HCl. (Это соответствует 5 мг пурпургаллина в 50 мл эфира).

Для составления калибровочной кривой делают соответствующие разведения стандартных растворов и просматривают на колориметре, как описано выше.

Определение полифенолоксидазы. Метод А.Ш. Галстяна [1974].

Активность полифенолоксидазы определяют тем же способом, что и активность пероксидазы (см. выше), за исключением того, что в реакционную среду не вносят перекись водорода.

Активность полифенолоксидазы выражают в миллиграммах пурпургаллина на 100 г почвы за 30 мин.

Реактивы:

1. 1%-ный раствор 1,2,3-пирогаллола.
2. Серный эфир.

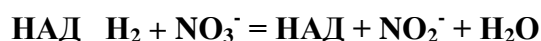
3. 0,5 н. HCl.

4. Стандартный раствор бихромата калия – 0,75 г K_2CrO_7 в 1 л 0,5 н. HCl. (Это соответствует 5 мг пурпургаллина в 50 мл эфира).

Нитратредуктазная активность.

(НАД(Ф)H₂:нитрат-оксидоредуктаза. КФ 1.6.6.1)

Нитратредуктаза катализирует процесс восстановления нитратов в почве до нитритов по схеме:



донор водорода (глюкоза)

Метод определения нитратредуктазной активности в почве А.Ш. Галстяна и Л.В. Маркосяна, модифицированный Л.А Мурдам [1982], основан на учете уменьшения количества нитратного азота при анаэробной инкубации в почве.

Ход анализа:

0,2 г сухого торфа помещают в пенициллиновую бутылочку, добавляют 20 мг $CaCO_3$, 1 мл 1%-ного раствора азотнокислого калия, после тщательного смешивания стеклянной палочкой (палочку оставляют в бутылочке) прибавляют 1 мл 1%-ного раствора глюкозы в качестве донора водорода. Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 1 г торфа + 20 мг $CaCO_3$ + 1 мл 1%-ной глюкозы;
- 2) 20 мг $CaCO_3$ + 1 мл 1%-ного KNO_3 + 1 мл 1%-ной глюкозы.

Пенициллиновые бутылочки со стеклянными палочками помещают в вакуумный термостат или вакуумный эксикатор и откачивают воздух до разряжения 10-12 мм рт. ст. Оставляют в термостате (вакуумный эксикатор помещают в термостат) на 24 часа при 30° С.

После инкубации пенициллиновые бутылочки заполняют на $\frac{1}{3}$ H_2O , добавляют 1 мл насыщенного раствора Al-K квасцов. Содержимое бутылочек переносят на плотный фильтр воронки, помещенной в мерную колбу на 50 мл, споласкивают бутылочку и стеклянную палочку дистиллированной водой. Затем промывают смесь до тех пор, пока в приемной колбе объем фильтрата не достигнет $\frac{2}{3}$ объема колбы. Доводят объем фильтрата до метки.

10 мл раствора переносят в фарфоровую чашку и досуха выпаривают на водяной бане. Затем прибавляют 1 мл дисульфобензоевой кислоты и тщательно растирают пестиком. Через 10 мин в чашку добавляют 10 мл дистиллированной воды, перемешивают

и полученный раствор нейтрализуют 10%-ным раствором NaOH – до щелочной реакции по лакмусовой бумажке. Окрашенный раствор переносят в мерную колбу на 100 мл, доводят водой до метки, перемешивают и через 15 мин колориметрируют с синим светофильтром с длиной волны 400-500 нм и кюветой 10 мм.

Измерения проводят против холостого раствора: 10 мл дистиллированной воды помещают в мерную колбу на 50 мл, приливают 1 мл дисульфофеноловой кислоты, тщательно перемешивают, нейтрализуют 10%-ным раствором щелочи до щелочной реакции по универсальной лакмусовой бумажке, доводят до метки, перемешивают и через 15 мин колориметрируют с синим светофильтром.

Активность нитратредуктазной активности выражают в мг восстановленного N-NO₃ за 24 ч на 1 г торфа. Количество восстановленного нитратного азота определяется как разность между суммой N-NO₃, содержащегося в торфе и в субстрате

Формула расчета нитратредуктазной активности:

$$A = \frac{C_{\text{восстан-NO}_3} \cdot V_1 \cdot k \cdot V_2}{m \cdot V_a},$$

где $C_{\text{восстан NO}_3} = C_s + C_{\text{T+в}} - C_{\text{T+s}}$;

A – потенциальная нитратредуктазная активность торфа, мг NO₃⁻ на 1 г торфа за 24 ч;

C_{восстан NO₃} – концентрация восстановленного N-NO₃, мг в 1 мл раствора;

C_{T+s} – концентрация N-NO₃ после инкубации торфа с субстратом, мг/ мл;

C_{T+в} – концентрация N-NO₃ после инкубации торфа без субстрата, мг/ мл;

C_s – концентрация N-NO₃ после инкубации субстрата без торфа, мг/ мл;

V₁ – объем инкубируемой жидкости перед выпариванием раствора, мл;

V₂ – объем жидкости после выпаривания, мл;

V_a – объем аликвоты для выпаривания, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %;

$$K = \frac{100}{100 - W}$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, вакуумный эксикатор, насос, пенициллиновые бутылочки, колбы мерные на 50, 100 мл, фарфоровые чашки на 20 мл, стеклянные палочки, стеклянные пестики, дозаторы на 1, 10 мл, пипетки на 1, 10 мл фильтр синяя лента.

Реактивы:

1. 1%-ный раствор KNO_3 : 1 г KNO_3 растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
2. 1%-ный раствор глюкозы: 1 г глюкозы растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
3. Насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов.
4. Дисульфифеноловая кислота : 50 г дисульфифеноловой кислоты растворить в 100 мл концентрированной серной кислоты.
5. 10%-ная $NaOH$: 10 г $NaOH$ растворяют в 90 мл дистиллированной воды.
6. $CaCO_3$ твердый, мелкодисперсный.
7. Стандартный раствор нитратов для построения калибровочной кривой: 1,63052 г перекристаллизованного KNO_3 растворяют в дистиллированной воде и объем доводят до 1 л. Титр раствора – 1 мг $N-NO_3$ в 1 мл раствора.

Рабочий раствор готовят разбавлением стандартного раствора в 20 раз перед употреблением. Титр рабочего раствора – 0,05 мг в 1 мл раствора.

Для построения калибровочной кривой делают соответствующие разведения калибровочного раствора и колориметрируют, показания прибора заносят в таблицу и по ним строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации $N-NO_3$.

Данные для построения калибровочного графика, $V_{общ} = 100$ мл

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем рабочего раствора, мл	1	2	4	6	8	10	12	14	16	20
Концентрация $N-NO_3$, мг/мл 10^{-3}	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Оптическая плотность										

Титр рабочего раствора – 0,05 мг/мл $N-NO_3$.

Нитритредуктазная активность

(НАД(Ф) H_2 :нитрит-оксидоредуктаза. КФ 1.6.6.4)

Нитритредуктаза катализирует процесс восстановления нитратов через гидроксиламины в гидрат окиси аммония по схеме:



донор водорода (глюкоза)

Метод определения нитритредуктазной активности в торфе А.Ш. Галстяна и Э.Г. Саакяна, модифицированный Л.А. Мурдам [1982], основан на учете остаточного количества не восстановленных нитритов.

Ход анализа:

0,2 г воздушно сухого торфа помещают в пенициллиновую бутылочку, прибавляют 20 мг CaCO_3 и тщательно перемешивают стеклянными палочками. Затем вносят 1 мл 0,5%-ного раствора NaNO_2 и 1 мл 1%-ного раствора глюкозы в качестве донора водорода, перемешивают.

Параллельно готовят контрольные образцы:

- 1) 1 г торфа + 20 мг CaCO_3 + 1 мл 1%-ной глюкозы;
- 2) 20 мг CaCO_3 + 1 мл 0,5%-ного NaNO_2 + 1 мл 1%-ной глюкозы.

Пенициллиновые бутылочки со стеклянными палочками помещают в вакуумный термостат или вакуумный эксикатор и откачивают воздух до разряжения 10-12 мм рт. ст. Оставляют в термостате (вакуумный эксикатор помещают в термостат) на 24 ч при 30 °С.

После инкубации пенициллиновые бутылочки заполняют на $\frac{1}{3}$ H_2O , добавляют 1 мл насыщенного раствора алюмокалиевых (АI-К) квасцов. Содержимое бутылочек переносят на плотный фильтр воронки, помещенной в мерную колбу на 50 мл, споласкивают бутылочку и стеклянную палочку дистиллированной водой. Затем промывают смесь до тех пор, пока в приемной колбе объем фильтрата не достигнет $\frac{2}{3}$ объема колбы. Доводят объем фильтрата до метки.

1 мл раствора переносят в мерную колбу на 100 мл, добавляют 50 мл дистиллированной воды и 4 мл реактива Грисса, доводят раствор дистиллированной водой до метки, перемешивают и полученный окрашенный красно-розовый раствор точно через 15 мин колориметрируют при длине волны 520 нм и кювете 10 мм. Измерения проводят против холостого раствора. Учитывая, что окраска быстро развивается со временем, окрашивать растворы в колбах рекомендуется партиями.

Активность нитритредуктазной активности выражают в мг восстановленного N-NO_2 за 24 ч на 1 г торфа.

Формула расчета нитритредуктазной активности почвы:

$$A = \frac{C_{\text{восстан}} \text{NO}_2 \cdot V_1 \cdot k}{V_2},$$

m Va

$$C_{\text{восстан}} \text{NO}_2 = C_s + C_{\text{T+В}} - C_{\text{T+S}}$$

A – потенциальная нитритредуктазная активность торфа, мг NO_2^- на 1 г торфа за 24 часа;

C_{восстан} NO₂ – концентрация восстановленных N-NO₂, мг в 1 мл раствора;

C_{T+S} – концентрация N-NO₂, после инкубации торфа с субстратом, мг/ мл;

C_{T+В} – концентрация N-NO₂, после инкубации торфа без субстрата, мг/ мл;

C_s – концентрация N-NO₂, после инкубации субстрата без торфа, мг/ мл;

V₁ – объем инкубируемой жидкости (после фильтрации), мл;

V₂ – объем окрашенного раствора, мл;

V_a – объем аликвоты для выпаривания, мл;

m – масса торфа, г;

k – коэффициент пересчета на сухое вещество;

W – влажность торфа, %

$$K = \frac{100}{100 - W}$$

Оборудование:

Фотоколориметр, весы, термостат, вакуумный эксикатор, насос, пенициллиновые бутылочки, колбы мерные на 50, 100 мл, стеклянные палочки, стеклянные пестики, пипетки на 1, 10 мл, фильтр синяя лента.

Реактивы:

1. 0,5%-ный раствор NaNO_2 : 0,5 г NaNO_2 растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
2. 1%-ный раствор глюкозы: 1 г глюкозы растворяют в 100 мл дистиллированной воды.
3. Насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов.
4. Реактив Грисса: 10 г реактива Грисса растворить в 100 мл безаммиачной дистиллированной воде на магнитной мешалке.
5. Стандартный раствор нитритов для построения калибровочной кривой: 0,925 KNO_2 растворить в 1 л дистиллированной воды. Титр раствора – 0,5 мг в 1 мл. Рабочий раствор готовят разбавлением стандартного раствора в 100 раз перед употреблением. Титр рабочего раствора – 0,005 мг в 1 мл раствора. Путем серии разбавлений готовят рабочие

растворы для построения калибровочной кривой, колориметрируют, показания прибора заносят в таблицу и по ним строят график зависимости оптической плотности от концентрации нитритного азота (мг/мл).

Данные для построения калибровочного графика, $V_{\text{общ}} = 100$ мл

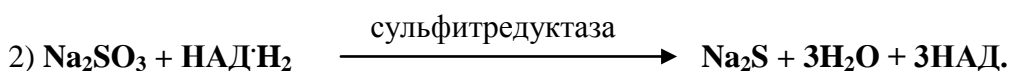
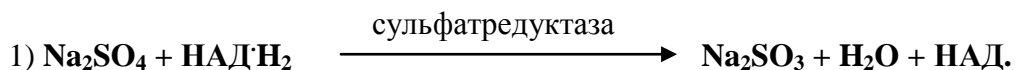
NN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем рабочего раствора, мл	1	2	4	6	8	10	12	14	16	20
Концентрация N-NO ₂ , мг/мл 10^{-3}	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Оптическая плотность										

Титр рабочего раствора – 0,005 мг/мл

Сульфаторедуктазная активность

(НАДН₂:сульфат-оксидоредуктаза. КФ 1.8.3)

В анаэробных условиях кислород сульфатов служит акцептором водорода при дыхании микроорганизмов. Мобилизованный дегидрогеназами водород донора (органические вещества почвы, НАД или ФАД) переносится сульфатредуктазами торфа от дегидрогеназных систем к кислороду сульфатов. В результате сульфаты восстанавливаются до сульфитов с последующим превращением до сульфидов при участии соответствующих ферментов



Эти ферменты играют важную роль в образовании солонцов в почвах сульфатного засоления [Галстян, 1967].

Метод А.Ш. Галстяна [1966]. Метод основан на учёте уменьшения количества сульфат-ионов при анаэробной инкубации раствора сернокислого натрия с почвой.

Ход анализа:

Навеску торфа (1 г) помещают в круглодонную колбу ёмкостью 100 мл с притёртой стеклянной пробкой (см. рис. 3), добавляют 20 мг углекислого кальция и тщательно смешивают, затем прибавляют 1 мл 0,5 н. Na₂SO₄ и 1 мл 5%-ного раствора глюкозы в качестве донора водорода. Воздух из колбы откачивают при разряжении 10-12 мм. рт. ст. Колбы осторожно встряхивают и помещают в термостат на неделю при 37 °С. В качестве

контроля ставят стерилизованную (180 °С, 3 ч) почву и нестерилизованную почву с водой вместо субстрата. После инкубации в колбы добавляют 100 мл дистиллированной воды и суспензию фильтруют через плотный фильтр. В 25 мл фильтрата количество сульфат-ионов определяют комплексо-метрическим методом.

Выполнение определения. Берут пипеткой 25 мл фильтрата и помещают в коническую титровальную колбу ёмкостью 100 мл. Доливают водой до 50 мл, бросают кусочек бумажки конго красного и подкисляют разбавленной HCl (1:1) до сине-фиолетовой окраски индикаторной бумажки (pH 3,0).

Нагревают до кипения, приливают из бюретки в горячий раствор 5 мл осадительной смеси BaCl₂ + MgCl₂, хорошо перемешивают и оставляют стоять на 2-3 ч или на сутки. Не отфильтровывая осадка BaSO₄, вносят в раствор 2 капли 1%-ного раствора Na₂S, добавляют 1 мл 5%-ного раствора солянокислого гидроксилamina и нейтрализуют (**по каплям!**) 10%-ным раствором NH₄OH до изменения бумажки конго в красный цвет (pH 5,2).

Приливают 5 мл смеси NH₄Cl + NH₄OH (pH 10), добавляют металлиндикатор хромоген черный или хром темно-синий, перемешивают и титруют 0,01 М раствором комплексона III до изменения окраски индикатора в точке эквивалентности. В конце титрования следует добавить ещё немного индикатора и буфера.

После этого (или предварительно) титруют осадительную смесь BaCl₂ + MgCl₂. Берут этой смеси такой же объём, какой был добавлен в анализируемый раствор, т.е. 50 мл, разбавляют дистиллированной водой до 100 мл, вносят 5 мл буферной смеси NH₄Cl + NH₄OH (pH 10) и в присутствии того же металлиндикатора титруют 0,01 М раствором комплексона III до изменения окраски раствора в точке эквивалентности.

Чтобы учесть, сколько расходуется комплексона III на связывание присутствующих в анализируемой пробе ионов кальция и магния, определяют содержание в ней этих ионов, если такое определение не проводилось по ходу анализа.

Для этого берут 25 мл фильтрата, разбавляют дистиллированной водой до 50 мл, прибавляют 2 капли 1%-ного водного раствора Na₂S, добавляют 1 мл 5%-ного раствора гидроксилamina и 5 мл буферной смеси NH₄Cl + NH₄OH.

Вносят металлиндикатор, перемешивают раствор и титруют его 0,01 М раствором комплексона III до изменения окраски в точке эквивалентности.

Учитывая результаты титрования и поправки из контрольного опыта на чистоту реактивов, а также поправку на содержание SO₃ по формуле

$$\frac{[a-(b-v)] \cdot T_{SO_3} \cdot 100}{g} = \% SO_3 ,$$

где **a** – количество мл раствора комплексона III, затраченного на титрование пробы осадительной смеси $BaCl_2 + MgCl_2$; **b** – количество мл раствора комплексона III, израсходованное на титрование анализируемого раствора после осаждения $BaSO_4$; **v** – количество мл раствора комплексона III, затраченное на титрование суммы ионов $Ca^{2+} + Mg^{2+}$, имеющих в анализируемой аликвотной части раствора; T_{SO_3} – титр молярного раствора комплексона III по SO_3 . Величина титра зависит от молярности раствора комплексона III; **г** – навеска сухой почвы, соответствующая аликвотной части фильтрата от полуторных окислов.

Пример вычисления. Определение серы в виде SO_3 проведено в 100 мл фильтрата от $R(OH)_3$. Эта аликвотная часть соответствует 0,1000 г сухого торфа.

На титрование анализируемого раствора после осаждения сернокислого бария израсходовано 14,3 мл 0,01 М раствора комплексона III.

На титрование осадительной смеси $BaCl_2 + MgCl_2$ затрачено 7,5 мл того же раствора, а на титрование суммы $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ пошло 7,2 мл этого раствора. По этим данным получаем:

$$\frac{[7,5-(14,3-7,2)] \cdot 0,0008006 \cdot 100}{0,1} = 0,32 \% SO_3$$

Реактивы

1. 0,5 н. Na_2SO_4 (в 1 мл 24,01 мг SO_4^{2-}).
2. 5%-ная глюкоза.
3. Дистиллированная вода, проверенная на отсутствие ионов кальция и магния.
4. HCl , разбавленная 1:1.
5. Индикаторная бумага конго красного.
6. Осадительная смесь $BaCl_2 + MgCl_2$. Приготавливают 0,01 М раствор $BaCl_2$, растворяя 2,44 г $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ в 1 л дистиллированной воды, а также 0,01 М раствор $MgCl_2$, растворяя 2,03 г $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ в 1 л воды, и смешивают оба раствора в равных объёмах.
7. 1%-ный раствор $Na_2S \cdot 9H_2O$. Раствор хранится не более 5 дней. Можно заменить раствор сульфида натрия сухим препаратом диэтилдитиокарбамина натрия или его 0,1%-ным водным раствором, внося в испытуемую пробу 1 мл этого раствора.
8. 5%-ный раствор солянокислого гидросиламина.
9. 10%-ный раствор NH_4OH .

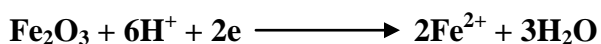
10. Буферная смесь $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NH}_4\text{OH}$ (рН 10).

11. Металлиндикатор – хромоген черный или хром темно-синий.

Ферриредуктазная активность

(восстановленный НАД(Ф) H_2 : Fe_2O_3 -оксидоредуктаза. КФ 1.6.99)

Восстановление соединений железа характерно для почвообразования в гумидных районах с преобладанием анаэробных условий в почвенном профиле. В этом непосредственное участие принимают многие виды микроорганизмов с помощью своих метаболитов, среди которых биологически активными являются ферменты. А.Ш. Галстян и Н.А. Оганесян [1973] показали, что при восстановлении железа в почве участвуют дегидрогеназные системы. Эти ферменты авторы назвали ферриредуктазами (Fe_2O_3 -редуктазы). Дегидрогеназы почвы (ферриредуктазы) используют кислород окиси железа в качестве конечного акцептора электронов в цепи окислительно-восстановительных процессов в почве. При этом окись железа восстанавливается в закисную форму



Донорами водорода могут служить различные органические соединения торфа.

Метод основан на определении количества образующегося двухвалентного железа при взаимодействии окиси железа с почвой.

Ход анализа:

1 г торфа, пропущенный через сито с диаметром ячеек 0,25 мм, помещают в вакуумную колбу ёмкостью 100 мл (рис. 3), вносят 5 мг окиси железа в виде тонко измельченного порошка, тщательно перемешивают и добавляют 1 мл дистиллированной воды и 1 мл 1%-ной глюкозы. Воздух из колбы откачивают при разряжении 10-12 мм. рт. ст. Колбу осторожно встряхивают и помещают в термостат на 48 ч при 30 °С. В качестве контролей ставят почву с водой вместо субстрата и субстрат без почвы. После выдерживания в термостате в опытную и контрольную колбы добавляют 18 мл 1 н. серной кислоты для экстрагирования восстановленного железа. Колбы встряхивают 5 мин и фильтруют. 5 мл фильтрата переносят в мерные колбы ёмкостью 25 мл, добавляют 12 мл ацетатного буферного раствора и 1 мл 0,5%-ного раствора 2,2'-дипиридила и доливают до метки. Через 30 мин окрашенный раствор колориметрируют, используя кюветы на 10 мм и зелёный светофильтр. Количественный учёт восстановленного железа производят с

помощью калибровочного графика, составленного из стандартных растворов соли Мора, результаты умножаются на 200.

Активность ферриредуктазы выражают в миллиграммах восстановленного Fe_2O_3 на 100 г почвы за 48 ч.

Реактивы:

1. Fe_2O_3 (тонкорастёртый порошок).
2. 1%-ная глюкоза.
3. 1 н. H_2SO_4 .
4. Ацетатный буфер – 100 г CH_3COONa растворяют в 500 мл воды, добавляют 300 мл ледяной уксусной кислоты и объём раствора доводят до 1 л.
5. 0,5%-ный раствор 2,2'-дипиридила.
6. Стандартный раствор соли Мора – 0,1 мг Fe в 1 мл 0,7022 г $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ растворяют в холодной прокипячённой дистиллированной воде, подкисленной 2 мл концентрированной H_2SO_4 , и разбавляют водой до 1 л. Рабочие растворы железа готовят разведением стандартного раствора.

5. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ

Вместе болотные и заболоченные оторфованные земли занимают в России 369,1 млн га или 21,6% территории страны. В Западной Сибири площадь болотных почв составляет более 32 млн га, а заторфованность отдельных территорий достигает 80%. В Беларуси площадь болотных почв достигает 2,5 млн га и они активно используются под сельскохозяйственные угодья. Результаты исследований полученные более чем за 20 летний период позволяют провести сравнительный анализ ферментативной активности торфов и торфяных почв и наметить систему оценки их ферментативной активности.

5.1. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ И ТОРФОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Характеристика ферментативной активности приводится по репрезентативным торфяным почвам и торфам, отобранным в пределах средней тайги (верховые торфяные почвы и торфа водоразделов и террас), южно-таёжной подзоны Западной Сибири (низинные торфяные почвы и торфа террас, древних ложбин стока; пойменные торфяные почвы в поймах рек Кии, Чулыма).

Прежде чем перейти к характеристике ферментативной активности таких специфических образований, как торф и торфяные почвы, хотелось бы отметить основные положения, которых мы в последующем изложении будем придерживаться.

Мы считаем, что торфяная залежь есть торфяная почва и, таким образом, характеризуя ферментативную активность торфов разного ботанического состава, отобранных из разных слоёв профиля, мы получаем представление и о ферментативной активности самих торфяных почв.

Справедливо отмечается, что верхний слой (почва) торфяной залежи наиболее активный, но это не означает, что нижележащие слои не активны. Аэробные и анаэробные микроорганизмы различаются между собой по своему каталитическому аппарату, термодинамике действия и направлению разрушений и превращений, совершающихся при их взаимодействии с органическим веществом. Наличие большого количества грибов в слое отмершего мха производит первое разрушение отмерших растений-торфообразователей. При ухудшающейся с углублением в торфяную залежь аэрации они уступают место дрожжам и бактериям. Последние производят их медленное, но неуклонное дальнейшее разрушение [Зименко, 1957; Раковский, Пигулевская, 1978; Головченко, Полянская, 1999]. В суммирующем виде эти процессы выражаются в

выделении из торфяной залежи CO_2 и CH_4 . Но в торфяной залежи происходит не только процесс минерализации, но и идет дальнейшая полимеризация органического вещества. Гипотезой быстрого завершения торфообразования в верхнем биологически активном слое торфяной залежи невозможно объяснить возрастание содержания гуминовых кислот, увеличения степени их обуглероженности, существующий синтез битумов при углублении в торфяную залежь. Таким образом, торфяной профиль биохимически активен.

Следует также отметить, что в торфяных почвах нарастание толщи торфа не происходит быстро. Абсолютный прирост торфа, например в таежно-лесных областях, составляет всего 0,27 – 0,65 мм/год [Нейштадт, 1965]. Отсюда следует, что метровый слой торфа накапливается за 1,5 – 2 тыс. лет. Поэтому верхний слой торфяной залежи сохраняет биологическую активность в течение длительного времени. И, таким образом, образец торфа, взятый из торфяной залежи любой глубины, в условиях аэробнозиса быстро восстанавливает уровень своего плодородия. Об этом свидетельствуют проведенные нами опыты по скорости минерализации органического вещества торфов, отобранных с разных глубин [Инишева, Дементьева, 2000].

Таким образом, весь стратиграфический профиль торфяника, в определенное время прошедший стадию болотного почвообразования, содержит определенное количество питательных веществ биогенного происхождения, микроорганизмы, ферменты и обладает потенциальным плодородием. Примером могут служить выработанные торфяники, которые по своим биологическим свойствам не являются торфогенной породой, а представляют собой полноценные сельскохозяйственные угодья [Inisheva et al. 1998].

Поэтому мы убеждены в том, что под торфяной почвой следует понимать весь торфяной профиль и верхний слой подстилающего его минерального грунта, как это было ранее предложено В.К. Бахновым [1986]. И следовательно, характеризуя ферментативную активность торфов разного ботанического состава, мы характеризуем ферментативную активность гипотетического профиля торфяных почв.

С целью выявления особенностей ферментативной активности западносибирских торфов разного ботанического состава было отобрано и проанализировано 200 образцов, соответствующих 6 группам и 21 виду торфа согласно классификации торфов и торфяных залежей Западной Сибири [2000]. Образцы представленных видов торфа отбирались на крупных типовых участках в генетических центрах торфяных месторождений из середины однородного по ботаническому составу слоя.

Впервые Ю.В. Еркова [1956] обобщила результаты исследований видового анализа 3572 образцов западносибирских торфов, степени их разложения и зольности, выявила некоторые особенности торфов Западной Сибири, уточнив и дополнив генетическую классификацию, разработанную Московским торфяным институтом для Европейской территории России. В эту классификацию вошли ряд видов, не встречающихся на торфяных месторождениях европейской части. Из низинного типа: кедровый, листовенничный, пихтовый, согровый, древесно-травяной, осоково-злаковый; переходного типа: пушицевый, комплексный, мочажинный; верхового типа: сосново-осоковый, осоково-сфагновый, ангустифолиум.

В последующем эта классификация была уточнена на основе анализа состава почти 100000 образцов торфа, отобранных на 1400 торфяных месторождениях Западно-Сибирского региона. Впервые при характеристике торфов и залежей Западной Сибири использованы данные по 180 торфяным месторождениям Кемеровской области и 103 торфяным месторождениям Алтайского края и Республики Алтай [Классификация, 2000].

Отметим особенности западносибирских торфов по новой классификации. Так, в низинном типе по Западной Сибири выделено 54 вида торфа, из которых 33 не входили в классификацию европейской части России. Характерной особенностью этих торфов является их олиготрофность, выражающаяся в присутствии верховых сфагновых мхов, главным образом *Sphagnum fuscum*, *S. magellanicum*, *S. angustifolium* в волокне торфов низинного типа. Признаки олиготрофности увеличиваются с юга на север.

Торфа переходного типа часто встречаются в залежах торфяных месторождений центральной части Западной Сибири. В новой классификации выделено 24 вида торфа, из которых 15 ранее не были учтены.

В отличие от торфов европейской части России, в верховых торфах Западной Сибири отмечается большое разнообразие видового состава торфообразователей, что позволило выделить новые виды торфа: сосново-осоковый, кустарничковый, кустарничково-сфагновый, осоково-сфагновый, травяно-сфагновый, сфагновый, майус, балтикум, куспидатум, папиллозум, линдбергии, йензении, лепензе, руссовии.

Рассмотрим ферменты классов гидролаз и пептидаминогидролаз.

Инвертаза. Протеаза. Уреаза. Основу торфа составляет углеводный комплекс. Он представлен тремя группами веществ. Первую группу составляют моносахариды, гексозы и пентозы, альдегидооксикислоты. К этой же группе относятся пятиатомные и шестиатомные спирты. Вторую группу образуют легкогидролизуемые (при 100 °С) полисахариды. Третья группа представлена целлюлозой.

Различные торфа существенно различаются между собой по содержанию соединений углеводного комплекса и соотношению отдельных его групп. Инвертазная активность является показателем интенсивности трансформации легкогидролизуемых углеводов типа сахарозы и крахмала, и в разных торфах будет иметь разную активность. Анализ приведённых данных в табл. 2 и 3 констатирует тот факт, что одноимённые по ботаническому составу группы торфов верхового и низинного типов в среднем характеризуются одинаковой инвертазной активностью за исключением торфов моховой группы. В целом изменение активности инвертазы в верховых торфах происходит от 0,00 до 143,29 мг глюкозы за 4 ч на 1 г (далее – ед.) при средних пределах 22,57 – 106,36 ед.; в низинных соответственно 0,00 – 346,93 и 21,83 – 74,55 ед.

Таким образом, разброс значений активности инвертазы больше в низинных торфах, но большая её активность проявляется в верховых и, особенно, в моховой группе торфов, где пределы средних (79,93 – 106,36 ед.) много выше чем максимальный экстремум среднего в низинных торфах. Если сравнить по среднему значению из всех средних (последняя строка в табл. 2 и 3), то среднестатистическая активность инвертазы в верховых торфах больше, чем в низинных, в 1,44 раза. Наибольшая активность инвертазы отмечена в фускум торфе (106,4 ед.) и более слабая, например, в магелланикум торфе (79,9 ед.). Это объясняется различной интенсивностью разрушения легкогидролизуемых соединений торфов.

В своих исследованиях учёные [Раковский, Пигулевская, 1978] показали, что интенсивность снижения содержания легкогидролизуемых веществ на каждый процент увеличения степени разложения в магелланикум торфе составляет 1,2 %, а фускум – 0,33 %, что объясняется степенью биохимической устойчивости углеводов этих торфов.

В низинных торфах один из важных компонентов состава торфов – наличие древесных остатков. С увеличением доли их в ботаническом составе торфов содержание легкогидролизуемых соединений снижается. Широкая вариабельность активности инвертазы в низинных торфах объясняется условиями залегания, широким диапазоном зольности и степени разложения. По степени увеличения инвертазной активности в низинных торфах можно составить ряд: древесные – древесно-травяные – древесно-осоковые – травяные – вахтовые – осоковые – гипновые – осоково-гипновые. В верховых: древесно-моховые – травяные – шейхцериено-сфагновые – пушицево-сфагновые – магелланикум – комплексный – сфагново-мочажинный – фускум. Отмеченная закономерность была ранее упомянута в работах учёных [Бамбалов, 1984; Смирнова и др., 1987; Бамбалов, Беленькая, 1993; Ефимов и др., 1998; Поздняков и др., 1998].

Ботанический состав торфов, слагающих торфяной профиль, определяет активность целинных верховых почв (табл. 4). Меньшей активностью инвертазы характеризуются почвы, слагаемые шейхцериевым видом торфа (17,24 – 65,92 ед.). В верховых торфяных почвах южнотаёжной подзоны слагаемых сфагново-мочажинным видом торфа уровень пределов изменения активности инвертазы в 2-4 раза выше (51,21 – 132,25 ед.), чем в верховых почвах шейхцериевого состава. В процессе торфообразования при отложении новых слоёв растений-торфообразователей в нижних слоях со временем происходит потеря биохимически неустойчивых веществ – углеводов и активность инвертазы снижается.

Активность инвертазы в низинных торфяных почвах древесного и древесно-осокового состава характеризуется значениями инвертазной активности от 0,00 до 74,45 ед. Причём самые высокие значения отмечаются в верхнем метровом слое. Верхний предел при этом соответствует верхнему пределу средних значений активности инвертазы низинных торфов, что выше отмечено. Если же сравнить активность инвертазы древесных и древесно-осоковых торфов, слагающих профиль торфяных почв с аналогичными торфами, описанными выше, то можно отметить, что по средним показателям они соответствуют. Существенно возрастает активность инвертазы в мелиорируемых пойменных торфяных почвах (табл. 6), и в особенности, в поверхностном слое 0 – 60 см, что объясняется прежде всего ботаническим составом. При сравнении активности инвертазы этих почв, сложенных осоковым и древесно-осоковым видом торфов (табл. 7), с активностью этого фермента аналогичных торфов (табл. 3), вышесказанное положение о роли ботанического состава торфов в активности ферментов подтверждается.

Азотсодержащие соединения торфов, прежде чем перейти в подвижные соединения, претерпевают сложные биохимические превращения. Начальный этап мобилизации органического азота начинается с действия гидролитических ферментов типа протеаз и нуклеаз. В результате происходит образование более простых азотсодержащих органических соединений – пуринов и пиримидинов. Эти вещества с помощью дезаминирующих гидролитических ферментов преобразуются до аммиака (стадия аммонификации). Из гидролитических дезаминаз в торфах наиболее изучена уреазы.

Активность протеазы рассмотрим на примере верховых и низинных торфов, уреазы – мелиорируемых пойменных торфяных почв.

Пределы средних значений активности протеазы в верховых торфах составляют 0,00 – 0,24 при среднем значении по всем торфам – 0,08, в низинных – соответственно

0,00 – 2,00 мг тирозина за 18 часов на 1 г (далее – ед.) (табл. 2,3). Довольно часто активность протеазы в торфах не выявляется совсем. Низкая протеолитическая активность и её отсутствие в торфах отмечались нами и ранее [Купревич, Щербакова, 1966; Фирсова и др., 1970; Зименко, Филимонова, 1974]. Возможно это, прежде всего, определяется труднодоступностью соединений азота торфов для ферментов. Известно, что основная часть азота (до 99 %) представлена трудногидролизуемыми соединениями белков и гумусовых кислот. В целом в торфах моховой группы активность протеазы равна нулю. Более высокая протеолитическая активность верховых торфов травяной группы по сравнению с торфами травяно-моховой группы обусловлена содержанием в них белка. Согласно В.А. Раковскому и Л.В. Пигулевской [1978] в травах содержится 8 – 10,5 % белка, во мхах – 5 – 7 %. В травяной группе большую протеолитическую активность имеет шейхцериевый торф (0,14 и 0,06 ед.). Активность протеазы в низинных торфах выше, но и здесь часто её активность не проявляется. По увеличению активности протеаз в низинных торфах может быть представлен ряд: травяные – древесно-травяные – древесные – травяно-моховые – моховые – древесно-моховые – травяно-гипновые – сфагновые. Важно отметить высокий коэффициент вариации протеолитической активности в торфах. Нашими исследованиями показано, что вероятность определения активности протеазы достаточно высокая в древесно-гипновых, сфагновых, травяно-гипновых торфах низинного типа, что связано с наличием в их составе остатков мхов, которые характеризуются менее выраженными коллоидными свойствами и меньшей дисперсностью.

Низкая протеолитическая активность отмечается также в целинных низинных торфяных почвах древесного и древесно-осокового состава. В верхней части профиля её активность поднимается до максимальных для этого вида торфов значений – 2,12 ед. (см. табл. 5), но с глубины 300 см и глубже протеолитическая активность уже не обнаруживается.

Изучение активности ферментов, принимающих участие в трансформации азота в торфах, представляет особый интерес. Азот представлен, в основном, в органической форме, и, надо полагать, процесс минерализации азота протекает с разной интенсивностью в торфах, разных по ботаническому составу. К сожалению по конкретным торфам таких данных не имеется, и уреазную активность рассмотрим на примере пойменных мелиорируемых торфяных почв осокового и древесно-осокового состава (табл. 7). Если сравнить с известной шкалой Д.Г. Звягинцева [1978], согласно которой средняя обогащённость уреазой составляет 1,0 – 3,0 мг NH₃ за 24 ч на 1 г, то в эту

градацию входит слой 0 – 20 см, ниже по профилю активность уреазы низкая. Заметим, что такая низкая активность проявляется в западносибирских торфяных почвах в условиях осушения. И, следовательно, в естественных условиях торфяных болот активность уреазы будет на порядок ниже.

Каталаза. Результаты исследований по активности каталазы разных видов торфа приведены в табл. 2,3.

Активность каталазы в торфах верхового типа изменяется в пределах от 0,24 до 1,64 мл O₂ 2 мин⁻¹ г⁻¹ (далее – ед.), низинного типа – от 0,26 до 32,48. Если посмотреть по среднему значению, то это соответственно 0,67 и 2,82 ед. Таким образом, средняя активность каталазы по рассматриваемым группам и видам торфа выше в торфах низинного типа в 4,2 раза. Если провести оценку по шкале Д.Г. Звягинцева [1978], то с учетом того, что в последней расчёт активности каталазы проведён за 1 мин, то исследуемые торфа можно охарактеризовать как очень бедные по обогащённости этим ферментом. Вместе с тем следует заметить, что, возможно, проводить такую оценку не следует по разным причинам. Первая заключается в том, что данная шкала была предложена достаточно давно. За это время проведено много исследований и требуется её доработка. Кроме того, шкала по оценке активности охватывает только 5 ферментов. Вторая причина: если по активности ферментов почвы оцениваются в единицах активности на навеску в граммах, то по ней нельзя оценить и сравнить потенциальную способность к катализу биохимических реакций почв с разными объёмными весами. Это отмечалось в исследованиях многих учёных [Раськова, Звягинцев, 1984; Славнина, Инишева, 1987 и др.]. Следует упомянуть ещё об одной системе показателей, но уже азотного состояния почв, включающих также два фермента – протеазу и уреазу [Хабилов, Хазинов, 1992], которой мы в последующем изложении воспользуемся. Однако явно назрела необходимость разработки новой шкалы. Но это уже отдельный вопрос. Здесь же мы ограничимся сравнительным анализом ферментативной активности торфов Сибирского региона и европейских аналогов.

Многие авторы считают, что каталазную активность можно рассматривать как показатель функциональной активности микрофлоры в различных экологических нишах. Универсальное распространение этого фермента связано с условиями, которые вполне приемлемы для живых организмов. Вместе с тем известно, что оптимальный интервал pH активности каталазы лежит в пределах нейтральной и слабощелочной. Так, например, Л.М. Загуральская [1977] констатирует отсутствие активности каталазы при pH 2,5 и меньше. Наши же исследования показали наличие каталазной активности в верховых

торфах в кислой реакции среды в том числе при рН 2,2 – 2,3. Вполне возможно, что эти особенности определяются видовым составом западносибирских торфов.

В пределах одной группы активность каталазы в разных торфах существенно различается. Так, в травяной группе (см. табл. 2) верховых торфов шейхцериевый торф по активности каталазы уступает пушицевым торфам. Обращает на себя внимание тот факт, что шейхцериево-сфагновые торфа по активности каталазы не отличаются от шейхцериевых торфов, тогда как каталазная активность пушицево-сфагновых торфов снижается в 2 раза по сравнению с активностью каталазы пушицевого вида торфа. Это определяется различиями в химическом составе растений-торфообразователей. Установлено, что олиготрофные растения, в отличие от эвтрофных, в составе легкогидролизуемых углеводов или гемицеллюлоз содержат меньше пентозанов, чем гексозанов [Скобеева, 1967; Маль, 1982]. Так сфагнум магелланикум содержит 37% пентозанов и 63% гексозанов, сфагнум фускум – 42 и 58 %, шейхцерию – 39 и 61 %. Наоборот, пушица по количеству пентозанов (80%) приближается к торфообразователям низинного типа. На основании вышерассмотренных особенностей углеводного состава болотных растений можно предполагать более высокое накопление гумусовых веществ в процессе трансформации торфов пушицевого вида по сравнению с шейхцериевыми и сфагновыми торфами, а среди торфов моховой группы – более высокое содержание гуминовых кислот в магелланикум торфе по сравнению с фускум, что было доказано нашими исследованиями. Поэтому активность каталазы, характеризующая в целом интенсивность окислительных процессов, торфов моховой группы, шейхцериевого, шейхцериево-сфагнового и пушицевого-сфагнового видов торфа лежит в одном интервале (0,37 – 0,72 ед.), тогда как каталазная активность пушицевого вида торфа соответствует 1,11 ед. (см. табл. 2).

В аналогичной травяной группе торфов низинного типа активность каталазы имеет широкие пределы варьирования среди других групп этого типа. Это можно объяснить разнообразием их по степени разложения и зольности. Вместе с тем среднее содержание – 2,88 ед. указывает, что большинство образцов характеризуется невысокими значениями активности каталазы. Причём превышение активности торфов травяной группы низинного типа составляет не более чем в 2 раза по средним значениям. Наиболее активно, судя по каталазе, окислительно-восстановительные процессы протекают в осоково-гипновых (3,11 ед.), осоковых (3,70 ед.), древесно-гипновых (5,55 ед.), травяно-гипновых (7,20 ед.) торфах, формирующихся в условиях богатого минерального питания.

Рассмотрим активность каталазы в профиле торфяной почвы (табл. 4,5). Заслуживает внимания тот факт, что её активность остаётся невысокой и даже в низинных торфяных почвах не переходит за предел 5,72 ед. Всё это позволяет признать, что низкая активность каталазы – это отличительный признак торфов и торфяных почв Западной Сибири. И только в осушенных торфяных почвах её активность увеличивается, достигая по средним показателям 27,3 ед. (табл. 6), что соответствует верхнему пределу активности каталазы в низинных торфах, что отмечалось выше. В то же время в высокозольных мелиорируемых почвах древесно-осокового состава пойменного залегания активность каталазы оказалась меньше, чем нормальнозольных торфяных почв (табл. 7). Изложенное позволяет сделать вывод, что главную роль в активности каталазы имеет ботанический состав торфов, слагающих профиль торфяных почв.

Нам представляется интересным сопоставить полученные результаты по западно-сибирским торфам и почвам с литературными источниками. Следует заметить, что каталаза – это самый распространённый фермент, который изучается. Отчасти это связано с его информативностью (так, например, можно определять каталазу ферментативную и неферментативную, что в этой работе мы не рассматриваем), но прежде всего с доступностью метода. Наибольшее количество работ посвящено каталазной ферментативной активности, и это позволяет систематизировать результаты. Так, в низинных торфяно-перегнойных маломощных почвах Кольского полуострова, сложенных гипново-осоковым и древесно-осоковыми торфами со степенью разложения 30 – 40%, активность каталазы составила 2,2 – 14,2 мл O_2 за 5 мин [Переверзев и др., 1970]. По данным этих же авторов, активность каталазы в переходной торфяно-перегнойной среднеспособной почве со степенью разложения 25 – 40% изменялась в пределах 5,2 – 18,4 в этих же единицах. Осоково-разнотравяное болото Вологодской области [Рунов, Терехов, 1960] в слое 0 – 30 см характеризовалось значениями каталазы 11,0 – 29,0 мл O_2 за 5 мин на 1 г. Торфяные почвы Армении [Галстян, Варданян, 1960], расположенные в горных районах на высоте 1600-2100 м над уровнем моря с мощностью торфяного профиля до 2 м и сложенные тростниково-осоковыми и осоковыми торфами со степенью разложения 10 – 50% и зольностью 5 – 63%, характеризуются каталазной активностью от 2,0 до 12,8 мл O_2 за 1 мин на 1 г. К сожалению, авторы исследовали каталазную активность только поверхностных горизонтов, которые наиболее богаты свежим растительным веществом и характеризуются аэробными условиями. В то же время другие авторы [Кацнельсон, Ершов, 1958] отмечали равномерный характер снижения активности каталазы с глубиной или даже скачкообразный и связывали это с ботаническим составом торфов.

Исследования этих авторов соответствовали интересам, отвечающим запросам того времени, когда ставилась задача изучения влияния мелиорации на интенсивность биологических процессов. И, к сожалению, мало уделялось внимания генетической стороне формирования биологического режима торфов и торфяных почв.

Полифенолоксидаза. Пероксидаза. В основе синтеза гумусовых компонентов торфа лежат окислительно-восстановительные процессы, осуществляемые ферментами класса оксидоредуктаз, к рассмотрению которых мы приступили, анализируя активность каталазы. Молекулы гумусовых кислот по М.М. Кононовой [1963], можно рассматривать как продукты поликонденсации и полимеризации ароматических соединений аминокислотами и протеинами. Процессу конденсации предшествует окисление фенолов до активных хинонов ферментами типа фенолоксидаз. В торфах и торфяных почвах, содержащих большое количество органических веществ (до 95 %), на долю гумусовых веществ приходится от 42 % в верховых и до 56 % в низинных типах. Среднее содержание гуминовых кислот колеблется от 5 до 52 % со снижением в торфах верхового типа. Поэтому экстремальные пределы изменений полифенолоксидазной (ПФО) активности в верховых торфах 0 – 1,81 при средних значениях 0,14 – 0,86 1,4п-бензохинона за 30 мин на 1 г (далее – ед.); в низинных соответственно 0 – 4,21 и 0,53 – 1,51 ед. (табл. 2,3). Если принять среднее значение по всем видам торфов, то ПФО верховых торфов имеет значение 0,39 ед., низинных – 0,86 ед., т.е. более чем в 2 раза активность ПФО в низинных торфах выше.

По мере того как изменяется состав органических веществ торфов в процессе почвообразования, когда происходит накопление гуминовых кислот и повышение их конденсированности происходит увеличение активности ПФО. Вот поэтому в ряду групп торфов: моховые – травяно-моховые – травяные с увеличением содержания биохимически устойчивых гумусовых веществ, происходит увеличение активности ПФО. Наименьшей активностью ПФО характеризуются торфа моховой группы, что обусловлено высокой обводнённостью, низкой аэрацией, а также антисептическими свойствами сфагновых мхов. Именно поэтому сфагнумы не подвержены деструкции, хорошо сохраняются по всей глубине торфяной залежи.

Низинные торфа, характеризуясь большей активностью ПФО в целом, различаются по видам даже в пределах одной группы. Например, в травяной группе торфов снижение активности ПФО проявляется в следующем порядке: вахтовый торф (1,51 ед.) – травяной (0,85 ед.) – шейхцериевый (0,76 ед.) – осоковый (0,71 ед.). Наши исследования показали, что прежде всего это определяется соотношением фракций в составе органических

веществ торфов. Так, в осоковых торфах по сравнению с травяными преобладают легкогидролизуемые вещества, в то время как содержание фракций гуминовых кислот в них значительно меньше, а отсюда и пониженные величины ПФО активности.

Проявление чётких закономерностей между ботаническим составом и ферментативной активностью отмечается не всегда. Остановимся на примере вахтовых торфов. По составу органических веществ эти торфа близки к осоковым, но по активности ПФО они в 2 раза активнее. Надо полагать, что отчасти это можно объяснить обогащённостью вахтовых торфов фенольными соединениями. Но заслуживает внимания и другое обстоятельство. В основе определения вида торфа лежит ботанический состав, который характеризует относительно устойчивое и достаточно постоянное сочетание доминирующих остатков отдельных видов растений-торфообразователей, отражающее, насколько возможно исходные растительные ассоциации. Безусловно, ботанический состав торфа не будет абсолютно соответствовать видовому составу исходного фитоценоза, так как многие растения быстро разлагаются и структурные остатки их в торфе не обнаруживаются. С другой стороны, определение ботанического состава зависит от квалификации специалиста-ботаника и носит, таким образом, субъективный характер. Поэтому, как уже неоднократно упоминалось в наших работах и в работах других авторов, необходимо постепенно перейти к химической классификации торфов, как наиболее точно отражающей прошедшие процессы торфогенеза.

Рассмотрим анализ ПФО активности торфяных почв (табл. 4). В профиле верховых торфяных почв значения ПФО достигают в придонном слое (древесно-шейхцериевый торф) 3,14 ед., что в 1,9 раз больше наибольшего экстремального значения в верховых торфах, описанных выше. Наибольшая активность ПФО отмечается в пушицево-сфагновых и шейхцериевых торфах. Причём пушицево-сфагновый торф имеет разный возраст и увеличение ПФО активности наблюдается в более древнем слое (примерно на 500 лет). Такая же закономерность характерна и в шейхцериевом слое торфяного профиля, за исключением слоя 150 – 175, который также выделялся и по каталазной активности.

В низинных торфяных почвах интенсивность ПФО по профилю более равномерна, и находится в пределах экстремальных значений низинных торфов, но в них отсутствует отмеченная в верховых торфяных почвах тенденция её увеличения с глубиной (табл. 5).

В мелиорируемых низинных торфяных почвах древесного и гипнового состава ПФО активность увеличивается в первых – в 2 раза, во вторых – в 4 раза (по средним значениям, табл. 6). В низинных торфяных почвах осокового и древесно-осокового состава пойменного залегания ПФО активность ниже, что связано с другим методом

анализа в отличие от всех выше рассмотренных результатов (табл. 7). Это же замечание относится и к пероксидазной активности, которая приводится только для мелиорируемых торфяных почв и её значения резко отличаются для условий пойменного залегания.

Нитрат-нитритредуктазы. Вопрос о превращениях азотных соединений в почвах остаётся до конца невыясненным. Однако определение активности нитрат- и нитритредукции позволяет в какой-то мере проводить оценку процесса превращения азота на стадии восстановления нитратного азота до аммиака. И в комплексе с микробиологическими и агрохимическими исследованиями получается целостная картина режимов в почвах. Более подробно развитие этих идей представлено в работе Т.П. Славниной и Л.И. Инишевой [1987].

Результаты по западносибирским торфам приведены в табл. 2 и 3. Пределы изменения нитратредуктазы в верховых торфах 0,63 – 8,05 при средних значениях 2,91 – 5,76; нитритредуктазы – соответственно 1,85 – 18,52 и 2,98 – 17,00. Соотношения активностей этих ферментов в разных группах торфов различаются. Так, например, в торфах травяно-моховой группы процессы восстановления нитратов и нитритов одинаковы (4,22 мг восстановленных NO_3^- за 24 ч на 1 г и 4,93 мг восстановленного NO_2^- за 24 ч на 1 г; далее – ед.), в то время как в моховой и травяной группах активность нитритредуктазы выше.

В низинных торфах активность нитратредуктаз выше и изменяется в более широких пределах. Так пределы активности нитратредуктаз по всем низинным торфам составляют 0,00 – 33,81 ед. при средних значениях 5,72 – 14,27, в то время как активность нитритредуктазы по всем показателям ниже, чем в верховых торфах. Результаты исследований показывают, что в низинных торфах активно происходит окисление аммонийного азота в нитратный.

Особо следует отметить примерно одинаковую активность обоих ферментов в осоковых торфах по средним их значениям. Что касается экстремальных значений, то их нижние и верхние пределы в осоковых торфах характеризуются самыми высокими значениями из всех низинных торфов.

Активность западносибирских торфяных почв можно проанализировать на примере целинных и мелиорируемых аналогов. Активность нитратредуктазы по профилю верховых торфяных почв изменяется от 3,60 до 7,28 ед., что соответствует активности верховых торфов вообще. Нитритредуктаза имеет в данных почвах пределы 1,87 – 7,01 ед. (см. табл. 4).

В низинных торфяных почвах (табл. 5) активность нитрат- и нитритредуктаз выше в верхней и нижней частях профиля и превышает в 2 – 3 раза средние её значения по профилю. Активность этих ферментов снижается с увеличением зольности торфов. Надо полагать, это явилось причиной снижения в 5 – 8 раз активности нитрат- и нитритредуктаз в мелиорируемых пойменных торфяных почвах (см. табл. 7).

Сульфатредуктаза. Итак, из цикла превращений азоторганических соединений мы рассмотрели только процессы восстановления окисленных продуктов аммонификации-нитрификации, катализируемые нитрат- и нитритредуктазой. Результатом биокаталитических процессов восстановления окисных соединений азота является образование водорода, который восстанавливает сульфаты при помощи сульфатредуктазы. Активность её зависит от степени анаэробности почв. В строго анаэробных условиях кислород сульфатов служит акцептором водорода при дыхании анаэробных облигатных бактерий. Активность сульфатредуктазы мы можем рассмотреть только на примере мелиорируемых пойменных торфяных почв древесного и древесно-осокового состава (табл. 7). Пределы активности в метровом слое изменяются от 0 до 22,45 мг восстановленных сульфатов на 1 г почвы (далее – ед.). Вниз по профилю активность сульфатредуктазы увеличивается. Следует заметить, что процесс сульфатредукции имеет большое значение в мелиорационных процессах. Так, согласно нашим данным [Инишева, Васильева, 1982] из мелиорируемых торфяных почв выносятся до 59 кг/га сульфатов, что разрушает поглощающий комплекс торфяных почв. Подробно вопрос оптимизации активности сульфатредуктазы рассматривается в наших исследованиях [см.: Инишева, 1992].

Ферриредуктаза. Система ферри-ферро занимает особое место среди окислительно-восстановительных систем, но ферментативный процесс изучен в слабой степени. В.Р. Вильямс [1949], а затем С.П. Ярков [1961] впервые показали, что при отсутствии органического вещества в почве, являющегося энергетическим субстратом для микроорганизмов, закисное железо не образуется даже в условиях полного затопления водой. Ферриредуктазы катализируют процессы восстановления железа. Многие почвенные микроорганизмы способны восстанавливать окись железа и обладают высокой ферриредуктазной активностью. Оптимальные условия для развития создаются при одновременном наличии в среде окисленных форм железа и растворённых органических веществ. Восстановление железа осуществляется в результате жизнедеятельности почвенной микрофлоры, состоящей из самых разных видов [Bloomfield, 1951,1954], которые не требовательны к теплу, и большинство из них развивается при температуре от

4 до 10 °С. Вопрос о превращениях железа в почвах вообще и в торфяных почвах в частности, очень важен в связи с их мелиорацией и особенно если осушение производится с помощью закрытого дренажа.

Согласно исследованиям Ф.Р. Зайдельмана [1975, 1982], закупорку гончарных дрен можно ожидать в зонах выклинивания грунтовых вод с содержанием железа более 6 – 12 мг/л. Другой причиной заохривания дрен может быть содержание подвижного железа в почвах. Как отмечает Ф.Р. Зайдельман [1982], в настоящее время нет четких разработок относительно критических концентрации подвижного железа в почвах, при которых возникает процесс образования охры. Имеется несколько точек зрения на образование охры в стыках дрен: химическая - окисление железа при смене окислительно-восстановительной обстановки, и микробиологическая - образование окисного железа за счет деятельности микроорганизмов. Образование и последующее его осаждение осуществляются в результате деятельности 2 групп микроорганизмов: автотрофных бактерий, непосредственно окисляющих закисное железо, и гетеро- или миксотрофов, разрушающих органоминеральные комплексы и способствующие осаждению железа в почвах и дренах [Аристовская, 1961, 1963; Mc Kenzie, 1960; Oades, 1963]. Следует отметить, что в окислении железа немаловажная роль принадлежит каталазе. При окислении органических веществ образуется перекись водорода, которую разлагает каталаза. Освобождающийся при этом кислород служит окислителем двухвалентного железа. Именно этим многие исследователи объясняют тот факт, что в минеральных почвах, в которых содержание органического вещества ниже, чем в торфяных, в дренах откладывается меньше окисных соединений железа [Кобленц, 1981].

Активность ферриредуктаз рассмотрим на примере мелиорируемых пойменных торфяных почв (см. табл. 7). Пределы изменения активности составляют 54,11 – 170,88 мг восстановленного железа на 100 г (далее ед.). Средние значения также достаточно высоки 74,25 – 136,91 ед. Распределение по профилю довольно равномерное с увеличением в придонном слое. Активность этого фермента увеличивается с увеличением влажности в торфяном профиле и поэтому характеризуется ярко выраженной динамикой в зависимости от погодных условий года.

Приведённый анализ фактического материала по западносибирским торфам и торфяным почвам позволяет сформулировать основные положения об их ферментативной активности. Прежде всего, активность всех ферментов в западносибирских торфах и торфяных почвах в сравнении с европейской частью России характеризуется как низкая. Вполне возможно, что переувлажненность территории Западной Сибири служит фактором

индивидуальности биохимических процессов, протекающих в торфяных болотах. Если это так, то в последующем возможна разработка оценочной шкалы активности ферментов, которая позволит в действительности оценить активность ферментов западносибирских торфов и соответственно торфяных почв.

Вполне определённо выявляется зависимость ферментативной активности торфов от их геоботанической структуры, степени разложения и зольности. Активность отдельных ферментов изменяется в широком интервале значений.

Торфяные почвы ферментативно активны по всему профилю. Это свидетельствует об активности протекания биохимических процессов в разные временные периоды торфогенеза.

5.2. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ БЕЛАРУСИ

Природные особенности территории Беларусь определяются её положением на западе Восточно-Европейской равнины в бассейнах Днепра, Западной Двины и Немана. Заболоченность территории обусловлена, прежде всего, её геологическим строением, особенностями гидрогеологии, генезисом и составом пород, климатом.

В геологическом отношении территория Беларуси является частью Русской платформы. Особую роль на территории Беларуси играют антропогеновые отложения. Они сплошным чехлом перекрывают образования более древних эпох и повсеместно являются почвообразующими породами. Их мощность колеблется в среднем от 80 до 90 м. В сложении этой толщи принимает участие широкий комплекс ледниковых, водно-ледниковых, озерных, аллювиальных, лессовых, эоловых и болотных образований. В литологическом составе антропогеновой толщи доминируют моренные суглинки и супеси, флювиогляциальные и аллювиальные пески, озерно-ледниковые пески, суглинки.

Современная поверхность территории, как следствие деятельности ледников, представляет собой чередование обширных возвышенностей с плоскими равнинами, расчленёнными долинами рек и слабовогнутыми низинами.

Беларусь относится к хорошо увлажняемой по климату территории. Среднегодовое количество осадков составляет 500 – 700 мм. Особенности природных условий Беларуси определяют широкое распространение на её территории процессов заболачивания.

Республика Беларусь является одним из наиболее заторфованных регионов в Европе. Общая площадь торфяных болот до начала их интенсивного освоения составляла 2,9 млн га (14 % территории). Торфяной фонд насчитывает свыше 9 тыс. торфяных

месторождений, выявленные и разведанные запасы торфа превышали 4,7 млрд т, прогнозные – оценивались в 5,1 млрд т.

Основные площади торфяных болот сконцентрированы в Белорусском Полесье. Более половины из них – маломощные с глубиной торфяной залежи в 40 – 100 см, практически повсеместно подстилаемые песками. Здесь осушено 700 тыс. га торфяных болот. В республике широко распространены торфяные почвы низинного типа. Они занимают 2,4 млн га, или 82,8 % общей площади торфяных ресурсов. Переходные болота встречаются сравнительно редко и занимают промежуточное положение между болотами низинного и верхового типа. Переходные болота, вместе с верховыми, составляют около 19 % всей площади болот, соответственно по площади 0,2 и 10,3 млн га. С семидесятых годов в Беларуси отмечались высокие темпы и масштабы использования торфяных ресурсов. В результате 50 % площади торфяных месторождений в настоящее время относятся к антропогенно-нарушенным. К настоящему времени запасы торфа составляют 4373,0 млн т, а общая площадь торфяного фонда равна 2415,2 млн га [Бамбаль Н.Н., Смирнова В.В. и др., 2000]. Преобладает использование торфяных ресурсов в качестве сельскохозяйственных земель.

Широко развернувшаяся в Беларуси мелиорация торфяных болот низинного типа и введение их в культуру вызвали необходимость глубокого изучения характера и темпов минерализации торфяной залежи в зависимости от способа мелиорации и агротехнических приемов. Правильное регулирование этих процессов позволяет более рационально использовать торфяно-болотные почвы. Освоению торфяно-болотных почв низинного типа предшествует прежде всего изменение водного режима, которое влечет за собой изменение направления природного почвообразовательного процесса. Органическое вещество торфа претерпевает при этом глубокие физико-химические изменения.

Ведущая роль в преобразовании органического вещества принадлежит почвенному населению, его ферментному аппарату. Поэтому глубокое изучение активности ферментов, катализирующих превращение сложных органических соединений, таких как углеводы, азотистые соединения, органофосфаты, а также ферментов, участвующих в окислительных процессах, дает возможность раскрыть сущность совершающихся в торфе превращений. Поэтому ферментативную активность белорусских торфяных почв мы рассмотрим на конкретных примерах в условиях их сельскохозяйственного использования.

Болото низинного типа расположено на территории Брестской области, осушено осенью 1967 г. Мощность торфяного пласта на массиве от 45 до 80 см. Ботанический состав торфа различается по слоям. В слое 0 – 7 см преобладают мхи со степенью разложения 20 – 25%; в слое 7 – 27 см до 95% составляют осоки и 5% тростник, степень разложения 40%; в слое 27-52 см 40 % составляют осоки, 40% кора и древесина ивы, березы, ольхи, степень разложения 30 – 35%. Грунтовые воды в летние месяцы находятся на глубине 60 – 90 см. Наиболее высокой активностью характеризуется верхний слой залежи (0-10 см), вниз по профилю она снижается, особенно резко снижается активность амилазы, уреазы, фосфатазы, каталазы (табл. 8). До распашки массива высокой ферментативной активностью характеризовался только самый верхний слой (0 – 10 см), в котором располагалась основная масса микроорганизмов и корней растений. По профилю почвы, с глубиной, их активность резко снижалась.

Высокая ферментативная активность в верхнем слое осушенной залежи свидетельствует о бурном протекании в нем биологических процессов. Следовательно, в условиях Беларуси, как только из торфяного пласта уходят вековые запасы воды, резко увеличивается аэробность, что способствует энергичному развитию микроорганизмов и обогащению верхнего слоя ферментами.

В конце лета массив был профрезерован, перед обработкой внесены удобрения $P_{60}K_{150}$ и сернокислая медь 10 кг/га. Обработка почвы фрезерованием способствовала лишь незначительному перемешиванию двух верхних слоев залежи с различной исходной активностью. В варианте со вспашкой верхний наиболее активный биологически слой был перевернут на глубину 30 см и на поверхности оказался слой, обладавший более низким уровнем активности. После первичной обработки почвы активность большинства ферментов (уреазы, фосфатазы, каталазы, полифенолоксидазы) во всем пахотном слое (0 – 30 см) стала такой же высокой, как и активность верхнего горизонта (0 – 10 см) до обработки. Активность верхнего горизонта фрезерованного и вспаханного участков была почти такой же, хотя в последнем случае на поверхности оказался менее активный слой. Надо полагать, вспашка способствует более резкому усилению ферментативной активности.

Обработка верхнего слоя торфяной залежи и улучшение аэрации сказались на увеличении активности уреазы, фосфатазы и каталазы и в подпахотном слое, что свидетельствует об интенсивном распаде в нем азотистых и фосфорсодержащих органических соединений.

Высокая активность гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов наблюдалась также на осушенном, но не обработанном участке, оставленном под залежь. Осушение и последующая обработка торфяно-болотной почвы создают благоприятные условия для усиления в ней ферментативных процессов. Высокая активность уреазы, протеазы, фосфатазы свидетельствует об интенсивном распаде азотистых органических соединений и органофосфатов.

Следовательно, уже с первых этапов освоения белорусских торфяников начинается процесс преобразования торфяной залежи, который захватывает не только пахотный, но и более глубокие ее слои.

Скорость биохимических превращений, происходящих в торфяной почве во многом определяется степенью ее осушения, т.е. глубиной опускания уровня грунтовых вод в течение вегетационного периода. В лизиметрическом опыте на окультуренной торфяно-болотной почве низинного типа древесного и тростниково-осокового вида (степень разложения 30 – 35%, зольность в пахотном горизонте 10 – 14%) был проведён опыт с моделированием уровня грунтовых вод.

Результаты эксперимента показали, что активность всех ферментов, за исключением фосфатазы, на протяжении первых пяти лет опыта была самой низкой при уровне грунтовых вод 20 – 70 см (табл. 9). При опускании уровня до 2 м активность ферментов увеличивалась.

Уникальным образцом окультуренных торфяных почв низинного типа являются почвы Минской опытной болотной станции. Коморовское болото, на котором была основана старейшая в Беларуси опытная болотная станция, относится к типу низинных болот напорно-грунтового питания. Мощность торфа около 2 м. Торф преимущественно осоковый и осоково-тростниковый. Осушение болота начато в 1913 г. при дальнейшем активном сельскохозяйственном использовании. В настоящее время болото является глубокоосушенным, уровень грунтовых вод понизился до 3 – 4 м. Степень разложения торфа на окультуренных участках – 53 %, зольность – 18 %. Для сравнения был взят аналогичный участок, но занятый древесно-кустарниковой растительностью.

Активность инвертазы, амилазы и протеазы в окультуренной почве была несколько более высокой, чем в почве под древесно-кустарниковой растительностью (табл. 10). Все остальные ферменты (уреаза, фосфатаза и каталаза) проявляли более высокую активность в торфяных почвах под растительностью. Особенно заметны были различия в уровне фосфатазной активности двух этих почв. В почвах под растительностью более активно протекают процессы мобилизации органических соединений фосфора. В целом эти почвы

обнаруживают более высокий уровень ферментативной активности, чем окультуренные. Причина этих различий еще точно не установлена, но можно предполагать, что обогащение окультуренных почв доступными для микроорганизмов веществами тормозит продукцию ими экстрацеллюлярных ферментов.

В качестве общей закономерности для торфяных почв низинного типа можно указать на постепенное затухание с увеличением давности освоения бурной энзиматической деятельности, которая отмечается в первые годы после ее осушения. Это, несомненно, обусловлено глубокими биологическими изменениями органического вещества торфяной залежи. Возможно, что некоторое влияние оказывает изменение физических свойств торфяной почвы по мере окультуривания: увеличение удельной и объемной массы, снижение порозности и, вследствие этого, уменьшение аэрации.

Осушенное переходное болото (сосново-пушицево-сфагновый фитоценоз) расположено на территории Червенского лесничества Минской области. Объект введен в эксплуатацию в 1961 г. Уровень грунтовых вод колебался от 0 до 1 м в течение вегетационного периода. Степень разложения верхнего слоя (3 – 15 см) – 22% , зольность - 4,9%; степень разложения торфа более глубокого слоя (15 – 30 см) – 26%, зольность – 8,4%.

Результаты исследований позволили обнаружить следующие закономерности. Наиболее благоприятные водно-воздушные условия в переходном болоте складываются в слое 0 – 20 см, который и является основной зоной развития корневых систем древесных и травянистых растений. В этом горизонте активно протекают микробиологические процессы, о чем свидетельствует высокий уровень ферментативной активности (табл. 11), что обусловлено бурным развитием в нем микроорганизмов за время, прошедшее после осушения. Кроме того, значительная доля активности принадлежит ферментам, сохранившимся в растительных остатках и ферментах, выделяемых растениями прижизненно. Сфагновые мхи, являющиеся основными торфообразователями в условиях болота переходного типа, обладают высокой ферментативной активностью.

Классифицировать торфяные почвы Беларуси по уровню ферментативной активности пока не представляется возможным, так как из всего разнообразия торфяных почв изучены только некоторые мелиорируемые торфяные болота. Полученные результаты позволяют только сделать вывод, что бурная активность, наблюдаемая в первые годы освоения, при длительном окультуривании затухает. Причиной снижения активности являются глубокие биологические и физико-химические изменения торфа.

Высокая активность первоначально осваиваемых торфяников, видимо, обусловлена длительной сохранностью ферментов растений-торфообразователей и микроорганизмов. Органические вещества, в том числе и ферменты, в условиях недостаточного газообмена консервируются и могут сохраняться длительное время. Они и обуславливают начальное преобразование торфа после осушения. Последующие превращения торфа осуществляются при активном участии микрофлоры.

Проведённый анализ литературных и собственных результатов исследований позволяет сформулировать основные положения о ферментативной активности торфов и торфяных почв. Приведённые в этой работе результаты носят отчасти противоречивый характер. Почему, например, в западносибирских торфах и торфяных почвах активность инвертазы больше, а протеазы и каталазы практически одинакова в сравнении с белорусскими, в то время как активность уреазы меньше (по экстремальным значениям). Казалось бы, что все доступные соединения в белорусских осушенных торфах должны быть переработаны. Недостаточно данных по оксидоредуктазам, что позволило бы оценить направленность окислительно-восстановительных процессов трансформации органического вещества, и это относится к работам фундаментального характера.

Остаётся достаточно много вопросов методического плана. Необходимо определить применимость разных методик определения активности ферментов к разным объектам исследований, а с другой стороны – систематизировать имеющийся материал с целью разработки оценочной шкалы активности ферментов. Нельзя не отметить и высокие пределы экстремальных значений отдельных ферментов, что предполагает исследование пространственной вариативности значений ферментативной активности торфов и торфяных почв в разных регионах, и изучение необходимой повторности определения для получения достоверных результатов. Но эти замечания носят частный характер. В следующей главе в более обобщённом виде представлены перспективы направлений исследования ферментативной активности.

Т а б л и ц а 2. Ферментативная активность торфов верхового типа.

Группа, вид торфа	Инвертаза ¹	Протеаза ²	Каталаза ³	Полифенол -оксидаза ⁴	Нитрат- редуктаза ⁵	Нитрит- редуктаза ⁶
Древесно-моховая группа (сосново-сфагновый)	<u>0,00-36,83</u> 22,57	0,00	<u>0,57-1,09</u> 0,79	<u>0,17-1,00</u> 0,62	-	-
Травяная группа:	<u>13,83-88,68</u> 40,34	<u>0,00-0,82</u> 0,10	<u>0,22-1,64</u> 0,9	<u>0,00-1,81</u> 0,58	<u>1,65-6,30</u> 3,24	<u>15,36-18,52</u> 17,00
шейхцериевый	<u>13,83-88,68</u> 36,35	<u>0,00-0,82</u> 0,14	<u>0,22-1,45</u> 0,72	<u>0,34-1,81</u> 0,86	-	-
пушицевый	<u>18,44-68,13</u> 45,12	<u>0,00-0,16</u> 0,06	<u>0,45-1,64</u> 1,11	<u>0,00-0,85</u> 0,24	-	-
Травяно-моховая группа:	<u>24,33-114,29</u> 69,95	<u>0,00-0,41</u> 0,04	<u>0,23-1,28</u> 0,61	<u>0,00-1,73</u> 0,49	<u>2,59-6,75</u> 4,22	<u>1,85-7,54</u> 4,93
шейхцериево-сфагновый	<u>29,43-111,37</u> 62,42	<u>0,00-0,41</u> 0,08	<u>0,42-1,28</u> 0,71	<u>0,05-0,62</u> 0,22	-	-
пушицево-сфагновый	<u>24,33-114,29</u> 77,49	0,00	<u>0,23-1,17</u> 0,50	<u>0,00-1,73</u> 0,84	-	-
Моховая группа:	<u>27,82-143,29</u> 90,72	<u>0,00-1,19</u> 0,07	<u>0,21-1,00</u> 0,55	<u>0,00-1,22</u> 0,20	<u>0,63-8,05</u> 3,98	<u>1,87-14,33</u> 7,25
магелланикум	<u>39,51-127,10</u> 79,93	<u>0,00-1,19</u> 0,24	<u>0,47-0,78</u> 0,68	<u>0,00-1,22</u> 0,47	-	-
фускум	<u>46,79-143,29</u> 106,36	0,00	<u>0,28-0,50</u> 0,37	<u>0,00-0,66</u> 0,13	-	-
комплексный	<u>27,82-112,04</u> 85,31	0,00	<u>0,21-1,00</u> 0,50	<u>0,00-0,11</u> 0,04	<u>0,63-8,05</u> 2,91	<u>5,81-14,33</u> 9,82
сфагново-мочажинный	<u>65,92-132,25</u> 91,66	<u>0,00-0,66</u> 0,22	<u>0,46-0,97</u> 0,69	<u>0,00-0,08</u> 0,05	<u>4,94-7,28</u> 5,76	<u>1,87-3,54</u> 2,98
Средние по средним	0,67	67,35	0,39	0,08		

Примечание: в числителе – экстремальные значения, в знаменателе – среднее; 1 – мг глюкозы за 4 ч на 1 г торфа; 2 – мг тирозина за 18 ч на 1 г торфа; 3 – мг O₂ за 2 мин. на 1 г; 4 – 1,4 п-бензохинона за 30 мин на 1 г торфа; 5 – мг восстановленного NO₃⁻ за 24 ч на 1 г; 6 – мг восстановленного NO₂⁻ за 24 ч на 1 г; “-” – не определяли.

Т а б л и ц а 3. Ферментативная активность торфов низинного типа

Группа, вид торфа	Инвертаза ¹	Протеаза ²	Каталаза ³	Полифенол-оксидаза ⁴	Нитрат-редуктаза ⁵	Нитрит-редуктаза ⁶
Древесная группа	<u>0,00-93,85</u> 22,92	<u>0,00-1,08</u> 0,14	<u>0,66-6,04</u> 1,77	<u>0,10-4,21</u> 0,99	<u>5,56-32,29</u> 12,70	<u>2,30-5,29</u> 3,81
Древесно-травяная Группа:	<u>0,00-110,81</u> 27,27	<u>0,00-2,12</u> 0,12	<u>0,73-8,95</u> 1,86	<u>0,00-2,60</u> 0,91	-	-
древесно-осоковый	<u>0,00-110,81</u> 30,47	<u>0,00-2,12</u> 0,15	<u>0,73-2,75</u> 1,43	<u>0,22-1,84</u> 0,79	<u>4,66-8,60</u> 5,72	<u>0,93-2,43</u> 1,97
Древесно-травяной	<u>0,00-44,73</u> 21,83	<u>0,00-0,71</u> 0,07	<u>0,74-8,95</u> 2,59	<u>0,00-2,60</u> 1,02	-	-
Древесно-моховая группа (древесно-гипновый)	<u>8,01-41,53</u> 25,76	<u>0,00-4,83</u> 1,26	<u>1,15-9,1</u> 55,55	<u>0,66-1,27</u> 0,96	-	-
Травяная группа:	<u>0,00-211,86</u> 54,16	<u>0,00-1,92</u> 0,12	<u>0,26-32,18</u> 2,88	<u>0,00-2,84</u> 0,82	-	-
травяной	<u>0,00-131,41</u> 34,26	0,00	<u>0,98-3,41</u> 1,86	<u>0,00-1,81</u> 0,85	-	-
осоковый	<u>0,00-211,86</u> 63,20	<u>0,00-1,92</u> 0,20	<u>0,26-32,48</u> 3,7	<u>0,00-2,84</u> 0,71	<u>7,51-33,81</u> 14,27	<u>1,86-16,94</u> 10,02
вахтовый	<u>36,43-81,67</u> 52,56	0,00	<u>0,69-1,58</u> 1,07	<u>0,93-2,52</u> 1,51	-	-
шейхцериевый	<u>29,43-56,23</u> 38,46	0,00	<u>0,56-2,97</u> 1,54	<u>0,18-1,26</u> 0,76	-	-
Травяно-моховая группа:	<u>3,92-264,13</u> 69,1	<u>0,00-4,47</u> 0,57	<u>1,23-17,7</u> 4,03	<u>0,00-1,91</u> 0,65	-	-
осоково-гипновый	<u>3,92-264,13</u> 74,55	<u>0,00-0,63</u> 0,13	<u>1,23-5,33</u> 3,11	<u>0,00-1,13</u> 0,53	<u>0,00-30,03</u> 9,98	<u>1,51-6,23</u> 3,35
травяно-гипновый	<u>7,25-107,05</u> 51,39	<u>0,00-4,47</u> 1,97	<u>1,46-17,7</u> 7,2	<u>0,25-1,91</u> 1,06	-	-
Моховая группа:	<u>2,42-346,93</u> 64,82	<u>0,00-3,19</u> 0,57	<u>0,34-6,70</u> 1,93	<u>0,00-1,90</u> 0,66	-	-
гипновый	<u>2,42-346,93</u> 69,94	<u>0,00-1,71</u> 0,19	<u>0,34-6,20</u> 1,66	<u>0,00-1,84</u> 0,58	<u>2,52-31,77</u> 10,49	<u>0,00-6,75</u> 3,73
сфагновый	<u>8,54-68,54</u> 45,38	<u>0,00-3,19</u> 2,00	<u>0,79-6,70</u> 2,94	<u>0,18-1,90</u> 0,98	-	-
Среднее по средним	2,82	46,63	0,86	0,47		

Примечание. В числителе – экстремальные значения, в знаменателе – среднее; 1 – мг глюкозы за 4 ч на 1 г торфа; 2 – мг тирозина за 18 ч на 1 г торфа; 3 – мг O₂ за 2 мин на 1 г; 4 – 1,4 п-бензохинона за 30 мин на 1 г торфа; 5 – мг восстановленного NO₃⁻ за 24 ч на 1 г; 6 – мг восстановленного NO₂⁻ за 24 ч на 1 г; “-” – не определяли.

Т а б л и ц а 4. Ферментативная активность целинных верховых торфяных почв

Глубина, см	Ботанический состав	Инвертаза ¹	Каталаза ²	Полифенол-оксидаза ³	Нитрат-редуктаза ⁴	Нитрит-редуктаза ⁵
<i>Верховые торфяные почвы, средняя тайга</i>						
25-75	Сфагново-мочажин.	65,92	0,63	0,00	4,94	3,52
75-125	Шейхцер.-сфагнов.	44,32	0,42	0,62	4,91	5,26
125-150	Шейхцериевый	24,41	0,71	0,93	3,60	4,37
150-175	Шейхцериевый	22,37	0,22	0,49	3,73	7,01
175-200	Шейхцериевый	17,24	0,56	1,81	3,63	5,89
200-225	Древ.-шейхц. перех.	27,50	0,44	3,41	4,80	4,70
<i>Верховые торфяные почвы, южнотаёжная подзона</i>						
0-10	Сфагново-мочажин.	132,25	0,46	0,08	7,28	1,87
10-50	Пушицево-сфагнов.	93,56	0,23	1,29	4,98	2,77
50-75	Сфагново-мочажин.	76,82	0,97	0,06	5,05	3,54
75-100	Пушицево-сфагновый	91,11	0,49	1,73	6,75	5,64
100-125	Травяной переходный	51,21	1,11	0,34	5,69	3,43

Примечание. 1 – мг глюкозы за 4 ч на 1 г; 2 – мл O₂ за 2 мин на 1 г; 3 – мг 1,4 п-бензохинона за 30 мин на 1 г; 4 – мг восстановленного NO₃⁻ за 24 ч на 1 г; 5 – мг восстановленного NO₂⁻ за 24 ч на 1 г;

Т а б л и ц а 5. Ферментативная активность низинных торфяных почв

Глубина, см	Ботанический состав	Инвертаза ¹	Протеаза ²	Каталаза ³	Полифенол-оксидаза ⁴	Нитрат-редуктаза ⁵	Нитрит-редуктаза ⁶
0-25	Древесный	74,45	1,06	3,30	1,33	19,33	4,69
25-50	Древ.-осоковый	42,77	2,12	1,15	0,76	8,60	1,89
50-75	Древесный	53,95	0,03	5,72	0,37	6,36	3,37
75-100	Древесный	37,56	0,34	0,90	0,67	8,09	3,85
100-125	Древ.-осоковый	54,94	0,04	0,88	0,91	5,41	2,24
125-150	Древ.-осоковый	25,97	0,09	0,93	0,80	4,66	2,34
150-175	Древ.-осоковый	49,15	0,08	0,78	0,61	5,41	2,03
175-200	Древ.-осоковый	34,45	0,25	0,80	1,03	4,74	2,43
200-225	Древ.-осоковый	0,00	0,01	0,94	0,92	5,47	0,93
225-250	Осоковый	33,75	0,00	0,87	0,99	7,88	13,03
250-275	Осоковый	36,43	0,00	1,10	1,09	8,89	12,03

Примечание. 1 – мг глюкозы за 4 ч на 1 г; 2 – мг тирозина за 18 ч на 1 г; 3 – мл O₂ за 2 мин на 1 г; 4 – мг 1,4 п-бензохинона за 30 мин на 1 г; 5 – мг восстановленного NO₃⁻ за 24 ч на 1 г; 6 – мг восстановленного NO₂⁻ за 24 ч на 1 г.

Т а б л и ц а 6. Ферментативная активность мелиорируемых низинных торфяных почв, I – терраса (профиль сложен гипновыми торфами), II – ложбина древнего стока (профиль сложен древесными торфами)

Глубина, см	Инвертаза ¹		Каталаза ²		Полифенолоксидаза ³		Пероксидаза ⁴	
	I	II	I	II	I	II	I	II
0-20	$\frac{54,0-153,7}{88,4}$	$\frac{47,1-165,2}{71,7}$	$\frac{3,2-7,3}{5,9}$	$\frac{5,6-7,8}{6,9}$	$\frac{0,5-3,5}{1,9}$	$\frac{0,8-2,2}{1,3}$	$\frac{7,6-31,7}{15,7}$	$\frac{1,8-13,0}{6,3}$
20-40	$\frac{24,0-143,2}{57,5}$	$\frac{57,9-217,9}{113,3}$	$\frac{4,3-50,0}{13,2}$	$\frac{3,0-7,1}{5,0}$	$\frac{0,4-3,9}{2,0}$	$\frac{0,8-3,2}{1,5}$	$\frac{10,3-26,8}{16,6}$	$\frac{1,9-12,8}{9,6}$
40-60	$\frac{10,1-66,0}{36}$	$\frac{82,4-199,6}{131,6}$	$\frac{16,0-50,8}{21,7}$	$\frac{3,3-7,7}{5,1}$	$\frac{0,4-3,9}{2,0}$	$\frac{0,8-2,8}{1,7}$	$\frac{6,2-19,2}{14,4}$	$\frac{3,9-16,7}{6,6}$
60-80	$\frac{9,2-54,6}{26,7}$	$\frac{9,2-54,6}{26,7}$	$\frac{13,7-45,8}{27,3}$	$\frac{3,3-7,7}{5,7}$	$\frac{0,7-4,1}{2,2}$	$\frac{1,6-3,8}{2,3}$	$\frac{6,9-20,9}{13,9}$	$\frac{1,5-20,2}{8,1}$
80-100	$\frac{19,6-62,0}{41,3}$	$\frac{19,6-62,0}{35,4}$	$\frac{12,7-51,2}{23,3}$	$\frac{3,2-7,5}{5,4}$	$\frac{0,6-3,4}{2,3}$	$\frac{0,8-4,3}{2,2}$	$\frac{11,1-29,7}{17,1}$	$\frac{3,4-18,0}{10,3}$

Примечание. в числителе – экстремальные значения, в знаменателе – среднее; 1 – мг глюкозы за 4 ч на 1 г; 2 - мл O₂ за 2 мин на 1 г; 3,4 – мг 1.4n-бензахинона за 30 мин на 1 г.

Т а б л и ц а 7. Ферментативная активность мелиорируемых пойменных торфяных почв (профиль сложен осоковыми и древесно-осоковыми торфами)

Глубина, см	Инвертаза ¹	Уреаза ²	Каталаза ³	ПФО ⁴	ПД ⁵	Нитрат-редуктаза ⁶	Нитрит-редуктаза ⁷	Сульфат-редуктаза ⁸	Ферри-редуктаза ⁹
0-20	<u>10,5-36,5</u> 23,5	<u>1,8-2,9</u> 2,3	<u>12,1-17,0</u> 14,0	<u>0,17-0,62</u> 0,43	<u>0,15-0,62</u> 0,31	<u>0,10-3,19</u> 1,26	<u>0,05-2,08</u> 1,72	<u>0,00-10,17</u> 5,00	<u>82,59-98,26</u> 89,71
20-40	<u>0,8-22,5</u> 11,6	-	<u>5,1-6,0</u> 6,2	<u>0,18-0,66</u> 0,35	<u>0,12-0,56</u> 0,33	<u>0,05-1,50</u> 0,68	<u>0,05-1,75</u> 0,79	<u>1,50-16,33</u> 8,54	<u>71,20-86,88</u> 81,98
40-60	<u>8,6-18,5</u> 12,2	<u>0,3-0,9</u> 0,5	<u>3,2-4,3</u> 3,7	<u>0,14-0,47</u> 0,33	<u>0,14-0,50</u> 0,31	<u>0,00-3,13</u> 1,07	<u>0,05-2,03</u> 0,76	<u>4,60-15,57</u> 8,09	<u>56,96-93,98</u> 74,25
60-80	<u>1,0-17,7</u> 9,3	<u>0,2-0,4</u> 0,3	<u>2,3-4,6</u> 3,2	<u>0,12-0,34</u> 0,23	<u>0,14-0,42</u> 0,24	<u>0,00-2,47</u> 0,87	<u>0,05-2,28</u> 1,71	<u>0,80-9,41</u> 5,64	<u>54,11-132,43</u> 86,46
80-100	<u>3,4-19,0</u> 11,2	<u>0,3-0,4</u> 0,3	<u>2,7-4,1</u> 3,1	<u>0,00-0,30</u> 0,22	<u>0,14-0,66</u> 0,39	<u>0,30-1,40</u> 0,81	<u>0,00-1,83</u> 0,85	<u>4,60-22,45</u> 12,32	<u>123,89-170,88</u> 136,91

Примечание. в числителе – экстремальные значения, в знаменателе – среднее; единицы выражения активности ферментов: 1 – мг глюкозы за 24 ч на 1 г; 2 – мг NH₃ за 24 ч на 1 г; 3 – см³ O₂ за 2 мин на 1 г; 4,5 – мг пурпургаллина на 1г; 6 – мг восстановленного NO₃⁻ за 24 ч на 1г; 7 – мг восстановленного NO₂⁻ за 24 ч на 1 г; 8 – мг восстановленного SO₄²⁻ на 1 г; 9 – мг восстановленного Fe²⁺ на 100 г.

Т а б л и ц а 8. Ферментативная активность торфяной почвы низинного типа (первый год после осушения), Брестская область

Глубина взятия образца, см	Инвертаза¹	Амилаза²	Протеаза³	Уреаза⁴	Фосфатаза⁵	Каталаза⁶
<i>До обработки (июнь)</i>						
0-10	31,6-46,4	33,5-49,0	3,6-4,3	6,51-8,5	1,6-1,8	16,4-17,4
10-30	25,0-32,0	17,0-46,5	1,6-3,2	0,7-1,5	0,4-0,5	6,1-7,7-
30-45	15,0-30,0	5,0-15,0	1,2-2,1	0,1-0,3	0,2-0,6	1,8-4,8
<i>Фрезерование (сентябрь)</i>						
0-30	20,3-26,3	4,4-19,0-	1,4-2,8	2,0-6,5	1,5-2,4	7,6-15,8
30-45	11,0-15,0	3,5-20,0	0,5-1,2	0,7-2,9	0,9-1,4	4,4-9,4
<i>Вспашка</i>						
0-30	22,6-25,8	10,0-24,0	2,1-2,7	8,4-11,6	1,4-2,3	9,8-11,6
30-45	19,0-23,2	6,06-11,8	1,2-2,2	1,3-2,2	1,3-2,5	6,5-13,5
<i>Осушенный, но не обработанный участок</i>						
0-30	18,7-23,7	19,8-25,2	1,3-2,7	1,6-4,6	0,8-3,9	11,6-13,0

* Единицы выражения активности ферментов: 1 – мг глюкозы на 1 г торфа за 4 ч; 2 – мг мальтозы на 1 г торфа за 4 ч; 3 – мг тирозина на 1 г торфа за 18 час.; 4 – мг аммонийного азота на 1 г торфа за 4 ч; 5 – мг фосфора на 1 г торфа за 24 ч; 6 – мл O₂ на 1 г торфа за 2 мин.

Т а б л и ц а 9. Ферментативная активность торфяной почвы низинного типа при различных уровнях грунтовых вод (объект “Волма” Минской области)

Уровень грунтовых вод, см (средний за вегетационный период)	Инвертаза	Протеаза	Уреаза	Фосфатаза	Каталаза
24-81	4,6-14,5	0,6-2,3	0,7-1,9	0,1-0,3	3,1-6,9
198-221	6,7-14,2	0,7-3,4	0,8-3,5	0,2-0,5	5,4-8,8

Единицы выражения активности ферментов см. в табл. 8.

Т а б л и ц а 10. Ферментативная активность старопахотной торфяной почвы низинного типа в слое 0-30 см

Ферменты	Почва	
	целинная	окультуренная
Инвертаза	8,0-15,5	7,8-18,7
Амилаза	6,0-15,0	5,3-21,9
Протеаза	0,4-1,7	0,8-1,6
Уреаза	1,0-5,0	1,0-3,2
Фосфатаза	0,4-0,9	0,1-0,5
Каталаза	3,8-8,8	4,2-6,8

* Единицы выражения активности ферментов см. в табл. 8.

Т а б л и ц а 11. Ферментативная активность торфяной почвы переходного типа

Ферменты	Слой, см	
	3-15	15-30
Инвертаза	7,7-38,2	4,4-19,7
Амилаза	13,0-22,8	6,4-22,5
Протеаза	0,3-1,0	0,1-0,4
Уреаза	1,3-10,5	1,8-6,4
Фосфатаза	0,2-0,9	0,09-0,1
Каталаза	6,2-11,1	1,6-17,8

* Единицы выражения активности ферментов см. в табл.8.

6. ПЕРСПЕКТИВЫ НАПРАВЛЕНИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

Наряду с микробиологическими методами биологическое состояние почв может быть оценено с помощью определения активности ферментов [Купревич, 1951; Галстян, 1974; Хазиев, 1982; Щербакова, 1983 и др.]. Это направление – энзимология почв – в последние годы развивалось особенно успешно. Выяснено, что активность ферментов является даже более устойчивым и чувствительным показателем биологической активности почв, чем интенсивность микробиологических процессов. Трансформация органических веществ, мобилизация элементов питания в почве осуществляются с помощью ферментов, как выделяемых в данный момент живыми организмами, так и находящихся в почве в адсорбированном состоянии, поэтому определение активности ферментов даёт полное представление о биологическом состоянии почв.

Некоторые авторы [Буйлов, Личко, 1977], основываясь на многочисленных работах, рассматривают активность ферментов как интегральное выражение биологических и физико-химических факторов почвы и считают возможным учитывать этот фактор при изучении эволюции почв.

Это направление изучения почв способствует углублению генетических аспектов почвоведения. Вместе с тем в изучении биологических режимов почв, их плодородия большую роль играет определение биокаталитических параметров, что даёт возможность направленно регулировать почвенные процессы, создавая оптимальные условия для развития растений и жизнедеятельности микроорганизмов.

Исследования в этом аспекте показали, что ферментативная активность почв может служить наряду с другими критериями надёжным диагностическим показателем для выяснения степени окультуренности почв. В результате многочисленных исследований установлена зависимость между активностью микробиологических и ферментативных процессов и проведением мероприятий, повышающих плодородие почв. Обработка почв, внесение удобрений существенно изменяют экологическую обстановку развития микроорганизмов, что неизбежно отражается на напряжённости биодинамики почв. Исследование ферментативной активности торфов и торфяных почв в процессе их торфогенеза позволит выйти на энзимодиагностику их функционирования. Использование ферментативного метода биологической диагностики предопределено также тем, что определение ферментативности ферментов менее трудоёмкое и имеет большую точность:

для гидролаз – до 3 – 5%, оксидоредуктаз – 7 – 10%. Ко всему прочему эти методы достаточно устойчивые и чувствительные.

Особую роль ферменты играют в преобразовании органических веществ. Этот эволюционный процесс во многом определяется регулирующим действием присутствующих ферментов. Это в большей степени относится к торфам и торфяным почвам, так как при изучении торфяного профиля убеждаемся, что главной причиной интенсивного распада растений-торфообразователей является не продолжительность распада (возраст), а состав органических веществ, имеющий различную биохимическую устойчивость. Основу формирования торфяного профиля составляет сложный процесс торфогенеза с неизменным участием микрофлоры и ферментов. И если роль микрофлоры в торфогенезе обозначена, то выявление степени участия ферментов находится на исходном этапе. Известно, например, что ряд микроорганизмов обладает чётко направленным характером производимых ими превращений. Одни микроорганизмы перерабатывают и окисляют органические вещества до воды и углекислоты (например, целлюлозу), исключая лигнин, а другие виды микробов способны разрушить лигнин. Однако в ряде случаев ожидалось, что процесс осахаривания целлюлозы и разрушения лигнина отнюдь не микробиологический, а ферментативный. Изучение почвенных ферментов на протяжении 50 лет позволило установить, что все внеклеточные ферменты, сорбированные почвой, участвуют в разложении органических веществ, поступающих в почву. Таким образом, казалось бы, и самые прочные в биохимическом отношении соединения торфов в принципе могут быть безостановочно разрушены в анаэробных условиях. Однако процессы переработки органических веществ микроорганизмами и ферментами основываются на чётком энергетическом фундаменте и конкретных питательных средах. Органические вещества-торфообразователи служат и пищей, и "топливом" для биохимических процессов. Окислительные реакции, являющиеся обязательными в процессе образования торфов, обеспечивают энергией эндотермические реакции и во много раз превышают теплоту реакций, протекающих без доступа кислорода. Возьмём классический пример. Окисление мономера целлюлозы и окислительно-восстановительный процесс спиртового брожения:



С энергетической точки зрения тепловые эффекты окислительно-восстановительных реакций, являющиеся основой конституционного дыхания, в 20 раз менее продуктивны, чем реакции прямого окисления. Если также учесть, что биохимические процессы в торфяной залежи проходят в водных средах, обладающих огромной теплоёмкостью и теплопроводимостью, и что свыше 90% тепла биохимических процессов уходит на потери в среду, будет ясно, что процессы распада, текущие в природе, реализуются более эффективно в случае наличия аэробных и полуанаэробных условий. Динамика этих процессов слабо изучена в торфяных почвах. Вместе с тем биологическая диагностика торфяных почв – это определение не только фактического, но и прогнозируемого состояния торфогенеза по его биологическим свойствам. В настоящее время самое серьёзное внимание уделяется торфяным болотам, их реакции на изменение климата. В условиях увеличения содержания углерода в атмосфере именно торфяные болота, единственные в наземной биогеоэкосистеме, обеспечивают постоянный сток в них углерода. По содержанию $C_{орг}$ почвы на единицу площади экосистем России располагаются в ряд: болота, степи, леса [Заверзин, 1994]. В случае активной разработки торфяных болот под добычу торфа происходит выделение 27 млн т углерода в год, под растениеводство – 4,5 млн т углерода в год. Таким образом, необходимо рациональное использование торфяных болот. Исследование биохимических процессов в нативных торфяных почвах и определение их биогеохимической роли в вещественно-энергетическом обмене системы “торфяные почвы – атмосфера” – актуальная проблема современного этапа.

Второе направление, требующее своего решения на современном этапе, – это исследование биохимии процессов функционирования торфяных почв как в нативных условиях, так и при антропогенном воздействии на них, а также оптимизация режимов при освоении. Торфяные почвы обладают поликаталитической системой, и изучение биохимического состояния торфяных почв в пространстве и во времени позволит разработать шкалу их оценки. Но в отличие от роли катализаторов, участвующих в простых системах, роль почвенных энзимов обособленно выделить очень трудно. Поэтому пока оценка биологической активности проводится методом сравнения одной почвы с другой, эталоном при этом служит чернозём как наиболее биологически уравновешенная система. На этом принципе построена шкала оценки обогащённости почв ферментами Д.В. Звягинцева [1978]. Но оценить по ней ферментативную активность торфов и торфяных почв не представляется возможным ввиду двух причин. Во-первых, это нельзя сделать из-за резкого различия объёмного веса органических и минеральных

почв. Во-вторых, оценка ферментативной активности торфов и торфяных почв, состоящих на 50 – 98% из углеводов разного состава, должна быть принципиально иной и это вопрос будущего.

Для познания прошлого и современного этапа торфогенеза весьма актуальным будет детальное исследование ферментативной активности стратиграфии торфяного профиля, каждый слой которого характеризуется сочетанием определённого химического состава субстрата и активностью ферментов. Но энзимологические процессы в торфяном профиле довольно сложны и определяются не только присутствием растений-торфообразователей определённых видов, глубиной залегания слоя и степенью анаэробнозиса, но часто и механизмом гумификации и торможения этих процессов у разных видов торфа. Накопление органических веществ в природе является следствием торможения микробиологических и ферментативных процессов. В условиях торфяного профиля это объясняется наличием в растениях-торфообразователях антисептиков, а также тем, что процессы ферментативного окисления OCH_3 -групп освобождают заблокированные фенольные группы. Результатом является в его крайнем проявлении – образование мощных торфяных профилей практически не разложившихся растений-торфообразователей, например сфагновые залежи торфа.

Таким образом, профильное функционирование системы «растения-торфообразователи – биохимические активаторы – болотная поровая вода» позволяет глубже понять природу разрушения органических веществ торфов и предсказать их биологическую сработку.

Дальнейшее развитие должно получить изучение кинетических особенностей действия ферментов. И это третье важное направление в энзимологии почв. Кинетический подход, состоящий в количественном описании протекания метаболической реакции на основе молекулярных представлений и законов химической кинетики, является перспективным также и для изучения ферментативной активности торфов и торфяных почв. Ранее проведённые исследования кинетики ферментативных процессов почв [Алиев, 1978 и др.] позволяют утверждать о реальности применения этого метода для характеристики активности энзиматических процессов. Литературные источники показывают, что кинетика ферментативного катализа в почвах безусловно сложна. Однако результаты кинетических реакций действия ферментов могут иметь большое значение для почвенной (в том числе и торфяной) энзимоиндикации. В большинстве случаев именно ферменты, являясь молекулярными биокинетическими системами в конечном счёте

определяют круговорот веществ и энергии как на клеточном уровне, так и на уровне биосферы в целом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Абрамян С.А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. 1992. N 7. С. 70-82.

Алиев С.А. Экология и энергетика биохимических процессов превращения органического вещества почвы. Баку: Изд-во ЭЛМ, 1978, 252 с.

Алиев Р.А., Звягинцев Д.Г. Действие протеолитических ферментов на свободную и адсорбированную каталазу, а также на каталазную активность почв // Вестник МГУ. Сер. 6. Биология, почвоведение. 1974. N 5. С. 97-104.

Аристовская Т.В. Аккумуляция железа при разложении органоминеральных комплексов гумусовых веществ микроорганизмами // ДАН СССР. 1961. Т.136. С.87-93.

Аристовская Т.В. О разложении органоминеральных соединений в подзолистых почвах // Почвоведение. 1963. Т.32, вып.2. С.276-280.

Бамбалов Н.Н. Баланс органического вещества торфяных почв и методы его изучения. Минск: Наука и техника, 1984. 175 с.

Бамбалов Н.Н., Беленькая Т.Я. Содержание и состав углеводов в целинных и мелиорируемых торфяных почвах // Почвоведение. 1993. №12. С. 87-91.

Бамбалов Н.Н., Смирнова В.В. и др. Современное состояние и перспективы использования торфяного фонда Беларуси // Природные ресурсы. 2000. №3. С. 5-15.

Бахнов В.К. Биогеохимические аспекты болотообразовательного процесса. Новосибирск: Наука, СО РАН, 1986, 199 с.

Березин И.В. Биокинетика. М.: Наука, 1979. 311 с.

Берестецкий О.А., Зубец Т.П. Влияние сельскохозяйственных культур на численность микрофлоры и биологическую активность дерново-подзолистых почв // Почвоведение. 1981. N 1. С. 91-101.

Буйлов В.В., Личко Р.П. Активность ферментов почв щелочного ряда // Химия и биология почв. Минск, 1977. Вып. 2. С.221.

Вильямс В.Р. Почвоведение. Земледелие с основами почвоведения. М.:Сельхозгиз, 1949, 270с.

Возбуцкая А.Е. Химия почвы. М.: Высшая школа, 1964. 235 с.

Воробьева Е.А., Звягинцев Д.Г. Устойчивость ферментов почв к инактивирующему действию температуры, γ -облучения и протеолиза // НДВШ. Биол. науки. 1978. N 6. С. 123-131.

Галстян А.Ш. Изучение сравнительной активности каталазы в некоторых типах почв Армении // Доклады АН АрмССР. 1956. Т.23. №2. С. 62-65.

Галстян А.Ш. О дегидрогеназах почвы // ДАН СССР. 1964. Т.156. С. 166-167.

Галстян А.Ш. Динамика ферментативных процессов почв // Докл. АН АрмССР. 1965а. Т.40, № 1. С. 39-42.

Галстян А.Ш. К методике определения активности гидролитических ферментов почвы // Почвоведение. 1965б. N 2. С. 68-74.

Галстян А.Ш. // Доклады АН СССР. 1966. №4. С. 959-968.

Галстян А.Ш. Роль ферментов в процессах образования соды в почве // Почвоведение. 1967. №5. С. 89-96.

Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван: Айастан, 1974. вып. 8. 275 с.

Галстян А.Ш. Определение активности ферментов почв. Ереван, 1978. 275 с.

Галстян А.Ш. Ферментативная диагностика почв // Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв. М.: Изд-во МГУ, 1980. С.110-121.

Галстян А.Ш., Абрамян С.А. Об иммобилизации ферментов почвой // Тез. докл. VII делег. съезда ВОП. Ташкент, 9-13 сентября 1985. Ташкент, 1985. Ч.2. С.156.

Галстян А.Ш., Варданян Т.Т. Изучение биологической активности торфа // Известия Арм. АН ССР. Сер. биол. наук. 1960. Т.13, №2. С. 77-84.

Галстян А.Ш., Оганесян Н.А. К вопросу восстановления окиси железа в почве// Докл. АН Арм.ССР. 1973. Т.56, №1. С.51-54.

Голимбет В.Е. О методике изучения ферментативной активности почв // Почвоведение. 1982. №1. С. 127-130.

Головченко А.В., Полянская Л.М. Жизнеспособность мицелия и спор грибов в торфяниках // Материалы совещания “Болота и заболоченные леса в свете задач устойчивого природопользования”. М.: Геос, 1999. С.106-109.

ГОСТ 28245.2 – 89. Торф. Методы определения ботанического состава и степени разложения. Введ. 01.07.90. М.: Изд-во стандартов, 1989.

ГОСТ 11305-83. Торф. Методы определения зольности. Введ. 01.01.85 взамен ГОСТ 7302 – 73. М.: Изд-во стандартов, 1984.

ГОСТ 10650 – 72.

Еркова Ю.В. Виды торфа. Торфяной фонд РСФСР. Сибирь. Дальний Восток. М.: Сов. наука, 1956. С. 45-70.

Ефимов В.Н., Донских И.Н., Кузнецова Л.М. и др. Торф в сельском хозяйстве Нечерноземной зоны: Справочник. Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. 303 с.

Ефимов В.Н., Царенко В.П., Лунина Н.Ф. Антропогенная деградация болотных почв и меры её предупреждения // Тез. докл. Всерос. конф. М., 1998. Т.2. С.64-67.

Заварзин Г.А. Баланс углерода в России // Природа. 1994. №7. С.15-18.

Загуральская Л.М. Определение биологической активности торфяно-болотных почв Томской области // Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства. М.: Наука, 1966. С. 41-48.

Загуральская Л.М. Микронаселение торфяно-болотных почв Томской области // Взаимоотношение леса и болота. М., 1967. С. 77-87.

Загуральская Л.М. Микробиологические и биохимические свойства торфяных почв Южной Карелии // Стационарное изучение болот и заболоченных лесов в связи с мелиорацией. Петрозаводск, 1977. С. 88-104.

Загуральская Л.М. Роль микроорганизмов в процессах трансформации органического вещества в торфяных почвах // Микроорганизмы как компонент биогеоценоза. Алма-Ата, 1982, с.80-81.

Зайдельман Ф.Р. Режим и условия мелиорации заболоченных почв. М.: Колос, 1975, 318 с.

Зайдельман Ф.Р. Мелиорация заболоченных почв Нечернозёмной зоны РСФСР: Справочная книга. М.: Колос. 1982. 168 с.

Звягинцев Д.Г. Проблемы биохимии почв // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. – 1977. № 1. С. 74 – 84.

Звягинцев Д.Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение. 1978. N 6. С. 48-54.

Звягинцев Д.Г. Иммунизированные ферменты в почвах // Микробные метаболиты. М.: Изд-во МГУ, 1979. С.31-46.

Звягинцев Д.Г., Алиев Р.А. Сравнительное изучение температурной устойчивости каталазы различного происхождения // Почвоведение. 1975. N 3. С. 73-80.

Звягинцев Д.Г., Воробьева Е.А., Горчарук Л.М., Андреева Т.А. Биологическая активность почв Северо-Западного Кавказа // Биологическая диагностика почв. М.: Наука, 1976. С. 98-99.

Звягинцев Д.Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых её показателей // Почвоведение. 1978. №6. С. 48-54.

Зенова Г.М., Широких И.Г., Лысак Л.В., Звягинцев Д.Г. Мезофильные и термотолерантные актиномицеты в рекультивируемых торфяниках подзоны южной тайги // Почвоведение. 1991. № 12. С. 54-61.

Зименко Т.Г. Распространение грибов рода *Penicillium* в торфяно-болотных почвах // Микробиология. 1957. Т.26. Вып.6. С. 756-761.

Зименко Т.Г. Микробиологические процессы в мелиорированных торфяниках Белоруссии и их направленное регулирование. Минск: Наука и техника, 1977. 206 с.

Зименко Т.Г., Самсонова А.С., Мисник А.Г. и др. Микробные ценозы торфяных почв и их функционирование. Минск: Наука и техника, 1983. 181 с.

Зименко Т.Г., Филимонова Т.В. Биологическая активность мелиоративных почв Выгонощенского торфяного массива // Экология почвенных микроорганизмов. Минск: Наука и техника, 1974. С. 123-129.

Ивлева С.Н. Ферментативная активность маломощных торфяных почв // Химизация сельского хозяйства. 1992. №3. С. 68-72.

Ивлева С.Н., Щербакова Т.А., Шимко Н.А., Свирновская В.Г. Изменение ферментативной активности маломощной торфяной почвы в условиях вегетационного опыта // Почвоведение. 1994. №1. С. 67-69.

Инишева Л.И. Почвенно-экологическое обоснование комплексных мелиораций. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 270 с.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Химический и микробиологический состав дренажных вод в осушаемых пойменных почвах // Водные ресурсы. 1982. №1. С.147-153.

Инишева Л.И., Васильева А.Н., Столярова С.Н. Влияние окислительно-восстановительных условий на микробиологические процессы в пойменных почвах // Сибирский вестник с.-х. наук. 1985. №5. С. 12-17.

Инишева Л.И., Дементьева Т.В. Скорость минерализации органического вещества торфа // Почвоведение. 2000. №2. С.196-203.

Карягіна Л.А., Михайлоуская Н.А. Вызначэнне актынасці поліфенолаксідазы і пераксідазы у глебе // Весцы АН БССР. Сер. сельскагаспадаргных навук. 1986. № 2. С. 40-41.

Кац Н.Я. Типы болот СССР и Западной европы и их географическое распространение. М.: Географиздат, 1948. 320 с.

Кацнельсон Р.С., Ершов В.В. Исследование микрофлоры целинных и окультуренных почв Карельской АССР // Биологическая активность почв КАСР / Микробиология. 1958. Т. 27, вып. 1. С. 82-88.

Киш И., Балинт И. Данные к изучению накопления энзимов в почве // Известия АН СССР. Серия биол. 1959. № 2. С. 215-220.

Классификация торфов и торфяных залежей Западной Сибири / Р.Г. Матухин, В.Г. Матухина, И.П. Васильев и др. Новосибирск: Изд-во СО РАН, НИЦ ОИГГМ, 2000. 90 с.

Кобленец Л.В. Железобактерии и заохривание дерн // Вестник с.-х. наук. 1981. №10. С. 135-137.

Козлов К.А. Ферментативная активность почв как показатель биологической активности // Докл. сиб. почвоведов VIII Междунар. почвенному конгрессу. Новосибирск, 1964. С. 96-106.

Козлов К.А. Биологическая активность почвы // Известия АН СССР. Сер. биол. наук. 1966. № 5. С. 719-733.

Козлов К.А., Нючева Е.М. К вопросу о возможных источниках обогащения почвы ферментами // Известия АН СССР. Сиб. отделение. Серия биол.-мед. наук. 1965. № 12, вып. 3. С. 131-134.

Кононова М.М. Органическое вещество почвы. Его природа, свойства и методы изучения. М.: Наука, 1963. 315 с.

Красильников Н.А. Выделение ферментов корнями растений // Доклады АН СССР. 1952. Т. 87. № 2.

Круглов Ю.В., Пароменская Л.Н. Модификация газометрического метода определения каталазной активности // Почвоведение. 1966. № 1. С. 93-95.

Купревич В.Ф. Внеклеточные ферменты корней высших автотрофных растений // ДАН СССР. 1949. Т. LXXVIII, №5. С. 953-956.

Купревич В.Ф. Биологическая активность почвы и методы ее определения // Доклады АН СССР. 1951. Т. 79, № 5. С. 863-866.

Купревич В.Ф. Вопросы почвенной энзимологии // Вестник АН СССР. 1958. № 4. С. 52-57.

Купревич В.Ф. Почвенная энзимология // Научные труды: В 4 т. Минск: Наука и техника, 1974. Т. 4. 404 с.

Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Протеолитическая активность торфяно-болотных почв // Доклады АН СССР. 1961. Т. 5, № 12. С. 579-581.

Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Почвенная энзимология. Минск: Наука и техника, 1966. 275 с.

Лиштван И.И., Базин Е.Т., Гамаюнов Н.И., Терентьев А.А. Физика и химия торфа. М.: Недра, 1989. 304 с.

Лиштван И.И. Физико-химические свойства торфа, химическая и термическая его переработка // Химия топлива. 1996. № 3. С. 3-23.

Маль С.С. Углеводы и азотсодержащие вещества торфа. Минск: Наука и техника, 1982. 231с.

Масько А.А., Галушко Н.А. К вопросу иммобилизации ферментов гумусом // Тез. докл. VIII Всесоюз. съезда почвоведов. Новосибирск, 14-18 августа 1989. Новосибирск, 1989. Кн.2. С. 228.

Масько А.А., Галушко Н.А., Потоцкая Л.А. Гумус как иммобилизатор почвенных ферментов // Почвоведение. 1992. N 1. С. 76-79.

Маштаков С.М., Кулаковская Т.Н., Гольдина С.М. Активность ферментов и интенсивность дыхания как показатель биологической активности почвы // Доклады АН СССР. 1954. № 1. С. 141-144.

Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М.: Изд-во МГУ, 1966. 213 с.

Мишустин Е.Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы / Успехи современной биологии. 1954. Т. 37, вып. 1. С. 1-22.

Мурдам Л.А. Динамика микробиологических процессов и ферментативной активности в связи с трансформацией азота в почве: Дис. ... канд. биол. наук. Таллин. 1982. 168 с.

Наплекова Н.Н. Взаимоотношения целлюлозообразующих микроорганизмов с олигонитрофильными бактериями // Изв.сиб.отд. АН СССР. Сер. Биол., 1970. Вып. 2, №10. С. 27-31.

Наплекова Н.Н., Гаджиев И.М., Кленов Б.М. Микробиологические процессы в почвах южной тайги Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1979. С. 3-21.

Нейштадт М.И. Некоторые итоги изучения отложений голоцена // Палеогеография и хронология верхнего плейстоцена и голоцена по данным радиоуглеродного метода. М.: Наука, 1965. С.74-83.

Никонов М.Н. Происхождение золы в торфах // Доклады АН СССР. 1955. Т. 105. № 2. – С. 309-311.

Номенклатура ферментов. М.: ВИНТИ, 1979. 221 с.

Переверзев В.Н., Головкин Э.А., Алексеева Н.С. Биологическая активность и азотный режим торфяно-болотных почв в условиях Крайнего Севера. Л.: Наука, 1970. 99 с.

Петерсон Н.В. Источники обогащения почвы ферментами // Мікробіол. журнал. 1961. Т. 23, вып. 6. С. 5-11.

Поздняков А.И., Позднякова Л.А., Позднякова А.Д. Деградация и эволюция торфяников при сельскохозяйственном использовании // Антропогенная деградация почвенного покрова и меры её предупреждения: Тезисы докл. Всерос. конф. М., 1998. Т.1. С.129-181.

Радюкина Н.Л., Софьин А.В., Кудрявцева Н.Н. и др. Современные представления об химических процессах в почве // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 2001. №2. С.13-19.

Раковский В.Е., Пигулевская Л.В. Химия и генезис торфа. М.: Недра, 1978. 231с.

Раськова Н.В., Звягинцев Д.Г. Влияние хранения почвенных образцов на активность и термостабильность ферментов // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 1977. N 4. С. 59-64.

Раськова Н.В., Звягинцев Д.Г. Методические аспекты определения ферментативной активности почв // Микроорганизмы как компонент биогеоценоза. М.: Наука, 1984. С. 127-140.

Ромейко И.Н., Малинская С.М. Ферментативная активность почвы при разных способах её обработки // Почвенная и сельскохозяйственная микробиология. Ташкент, 1963. С. 110-114.

Ростовщикова И.Н., Корнеева Г.А., Степанов А.А. Ферментативная деструкция веществ гумусовой природы // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 1998. № 4. С. 22-27.

Рунов Е.В., Терехов О.С. К вопросу об активности каталазы в некоторых лесных почвах // Почвоведение. 1960. № 9. С. 75-80.

Савичева О.Г. К методу определения ферментативной активности торфов // Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр./ РАСХН Сиб. отд. СибНИИТ. Томск, 1997. С. 60-67.

Скобеева Е.И. Особенности химического состава растений-торфообразователей и торфа. // Химия и химическая технология. М.: Недра, 1967. Вып.3(16). С.115-123.

Славнина Т.П., Иншиева Л.И. Биологическая активность почв Томской области. Томск: Изд-во ТГУ, 1987. 216 с.

Смирнов В.Н., Гришкун Е.В., Усынина В.А. Влияние хранения почвенных образцов и отбора корешков на биологическую активность почв // Сборник докл. симпозиума по ферментам почвы. – Минск: Наука и техника, 1968. С. 276-279.

Смирнова В.В., Бамбалов Н.Н., Клицунова В.А. Баланс органического вещества торфяных почв разного генезиса // Проблемы Полесья. Минск, 1987. №11. С.33-39.

Тейт Р. Органическое вещество почвы. М.: Мир, 1991. 400 с.

- Туев Н.А.* Микробиологические процессы гумусообразования. М.: Агропромиздат, 1989. 239 с.
- Тюремнов С.Н.* Торфяные месторождения. М.: Недра, 1976. 488 с.
- Фирсова В.П., Кулай Г.А., Хренова Г.С.* Свойства, состав микрофлоры и ферментативная активность почв северотаёжной подзоны Западносибирской низменности // Труды Института экологии растений и животных. Уральский филиал АН СССР. 1970. Вып.76. С. 66-87.
- Хабиров И.К., Хазиев Ф.Х.* Система показателей азотного состояния почв Южного Урала // Почвоведение. 1992. №2. С.14-22.
- Хазиев Ф.Х.* Почвенные ферменты. М.: Знание, 1972. 32 с.
- Хазиев Ф.Х.* Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1982. 203 с.
- Хазиев Ф.Х.* Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 1990. 189 с.
- Щербакова Т.А.* Почвенные ферменты, их выделение и связь с компонентами почвы // Почвоведение. 1980. № 5. С. 102-113.
- Щербакова Т.А.* Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. Минск: Наука и техника, 1983. 222 с.
- Щербакова Т.А., Масько А.А., Галушко Н.А.* Выделение из почвы органоминеральных комплексов, обладающих ферментативной активностью // Почвоведение. 1981. N 4. С. 71-78.
- Яковлев В.А.* Ферментативная кинетика // Ферменты. М.: Наука, 1964. 311 с.
- Яковлев А.С.* Биологическая диагностика и мониторинг состояния почв // Почвоведение. 2000. №1. С. 70-79.
- Ярков С.П.* Почвы лесолуговой зоны СССР. М.: Изд-во АН СССР. 1961. 280 с.
- Bernfeld P.* Methods in Enzimology. N.Y.; L.:Acad. press., 1955. 444 p.
- Bloomfielf C.* Experiments on the mechanism of qley formation // Journal of soil Science, 1951, Vol. 2, №2. P. 196-211.
- Bloomfield C.* A study of podzolization, IV, The mobilization of iron and aluminium by piched and follen larch needles // Journal of soil Science. 1954. Vol.5, №1, P. 46-49.
- Inisheva L.I., Dementyeva T.V., Savicheva O.J., Borovkova A.F., Aristarhova V.E.* The organic transformation of peat in outover peatland. Peatland restoration and reclamation // Techniques and Regulatory Cjncideration, Duluth, Minnesota, USA. International peat Society, 1998. P. 202-204.

Hoffmann G. Verteilung und Herkunft einiger Enzyme im Boden // *Z. Pflanzenernähr. Dung. Bodenkunde.* 1959. Bd. 85, H. 2. P. 97-104.

Ladd J.N., Butler J.H. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates // *Soil Biol. and Biochem.* 1972. Vol. 4. P. 19-30.

Lenhard J. // *Z. Pflanzenernähr. Dung. Bodenrunde.* 1973. №1. P. 182.

Mc Kenzie L.L., Whiteside F.P., Erickson A.E. Oxidation-reduction studies on the mechanism of B horizon formation in Podsoles // *Soil Science Society of America.* 1960. Vol. 24, № 4, P. 300-305.

Oades I.M. The nature and distribution of iron compounds in soils. *Soil and Fertilizers,* 1963, Vol. 26, № 4, P. 69-80.

Pancholy S.K., Rice E.L. Effect of storage conditions on activities of urease, invertase, amylase and dehydrogenase in soil // *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 1972. Vol. 36. P. 536-537.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ ПО ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ

Агеев Б.Г., Дементьева Т.В., Инишева Л.И. Эмиссия CO₂ при трансформационных процессах в торфе. // *Оптика атмосферы и океана.* 1999. Т. 12, №9, С. 829-831.

Алексеева Н.С., Головки Э.А., Переверзев В.Н. Азотный режим и биологическая активность торфяно-болотной почвы Кольского полуострова // *Агрохимия.* 1969. № 3. С. 3-13.

Аристархова В.Е., Инишева Л.И., Белова Е.В. Динамика биологической активности выработанных торфяных почв при разных режимах использования // *Матер. межд. науч. конф. "Современные проблемы почвоведения в Сибири".* Томск, 2000. Т. 2. С. 273-276.

Белова Е.В. Ферментативная активность выработанных торфяных почв // *Сибирская школа молодого ученого: Тез. докл. Науч.-практ. Конф. студентов, аспирантов и молодых ученых.* Томск: Изд-во ТГПУ, 1999. С. 53-54.

Белова Е.В. Каталазная активность рекультивированных торфяных почв // *Проблемы региональной экологии.* Новосибирск: СО РАН, 2000. Вып. 6. С. 60-61.

Белова Е.В. Ферментативная активность выработанных торфяных почв при сельскохозяйственном использовании // *Сибирская аграрная наука III тысячелетия.* Новосибирск: СО РАН, 2000. С. 89-90.

Бельский Б.Е., Демиденко Д.М., Михальцевич А.И. и др. Влияние минеральных удобрений и орошения на биологическую активность торфяно-болотных почв и урожай многолетних трав // Мелиорация и использование торфяников Полесья. Минск, 1975. С. 83-95.

Блинцов И.К., Ипатьев В.А. О микробиологической и ферментативной активности осушенных торфяных почв под сосновыми насаждениями // НДВШ. Биол. науки. 1973. № 10. С. 119-123.

Бородько С.Н. Протеолитическая активность вновь осваиваемых торфяно-болотных почв // Тез. IV научн. конф. молодых ученых по современным проблемам биологии. Минск, 1970. С. 180-182.

Бородько С.Н. Протеолитическая и уреазная активность торфяно-болотных почв // Матер. 3-й научн. конф. молодых ученых. Уфа, 1972.

Бородько С.Н. Изменение активности протеазы и уреазы в процессе окультуривания маломощной торфяной почвы // Биологические основы и рациональное использование почвенных и растительных ресурсов Башкирии. Уфа, 1976. С. 29-31.

Бородько С.Н., Волков А.Е., Шимко Н.А. Влияние осушения и освоения на урожай сельскохозяйственных культур и изменение ферментативной активности маломощной торфяной почвы низинного типа // Матер. Конф. молодых ученых Ин-та мелиорации. Минск, 1974.

Вавуло Ф.П., Корягина Л.А., Барташевич Л.М. Изменение ферментативной активности дерново-подзолистой и торфяно-болотной почв под влиянием удобрений // Сборник докл. симпозиума по ферментам почвы. Минск, 1968. С. 340-355.

Вавуло Ф.П., Корягина Л.А., Коляда Т.И. Действие удобрений на микрофлору и ферментативную активность дерново-подзолистых и торфяно-болотных почв // Тр. Ин-та почвоведения (Беларус. НИИ почвоведения). 1969. Вып. 6. С. 122-135.

Вавуло Ф.П., Корягина Л.А., Воробьева Е.Н. и др. Влияние влажности на биологическую активность торфяно-болотной почвы разной степени окультуренности // Тр. Белорус. НИИ почвоведения и агрохимии. 1970. Вып. 9. С. 184-192.

Варданын Т.Т. Агрохимическая характеристика торфов Армении : Автореф. дис. ... канд с.-х. наук. Ереван, 1961. 16 с.

Галстян А.Ш., Варданын Т.Т. Изучение биологической активности торфа // Известия АН Арм. ССР. Сер. биол. наук. 1960. Т.13, № 2. С. 77-84.

Головко Э.А., Переверзев В.Н. Изменение активности некоторых ферментов в торфяной почве под влиянием окультуривания // Тез. докл. симпозиума по ферментам почвы. Минск: АН БССР, 1967. – С. 81-84.

Головко Э.А., Переверзев В.Н. Изменение активности некоторых ферментов в торфяных почвах под влиянием окультуривания // Сборник докладов симпозиума по ферментам почвы. – Минск: Наука и техника, 1968. С. 297-305.

Голуб Т.Ф. Биохимические свойства торфяно-болотных почв и их изменение в связи с мелиорацией // Вопросы почвенной микробиологии: Тр. Ин-та микробиологии АН Латв.ССР. Рига: Изд-во АН Латв.ССР, 1958. Вып. 7. С. 153-158.

Голуб Т.Ф. Биохимические процессы в целинных и освоенных торфяно-болотных почвах // Почвоведение. 1964. № 7. С. 45-54.

Горин И.А., Шевченко Н.Н., Власенко Л.П. Особенности биологической активности гипново-осоковых торфяников Волынского Полесья на первых этапах освоения // Тр. Харьк. с.-х. ин-та. Харьков, 1977. Т. 230. С. 39-50.

Дементьева Т.В., Савичева О.Г. Критерии оценки свойств торфов при сельскохозяйственном использовании // Вклад молодых ученых в развитие сибирской аграрной науки: Матер. конф. науч. молодежи 23 апреля 1998 г., Краснообск. Новосибирск, 1999. С. 91-92.

Дементьева Т.В., Савичева О.Г. Критерии оценки свойств торфов при производстве торфяных смесей // Проблемы региональной экологии: Матер. I регион. науч.-практ. конф. молодежи, Томск, 10-12 ноября 1998. Томск, 2000. С. 143.

Дудченко В.Г., Уляшова Р.М., Бескровный А.К., Джигирис Л.А. Ферментативная активность – показатель плодородия окультуренной торфяной почвы // V съезд Всесоюз. микробиол. общества: Тез. докл. Ереван, 1975. С. 116-127.

Ершов В.В. Биохимическая активность осушенных низинных торфяных почв // Влияние мелиорации на состав и свойства торфяных почв. Петрозаводск, 1985. С. 70-78.

Ефремова Т.Т. Активность ферментов как показатель напряженности биохимических процессов в торфяных почвах // Биология гетеротрофных микроорганизмов. Красноярск, 1971. С. 130-134.

Ефремова Т.Т. Влияние осушения и лесной растительности на биохимические процессы в торфяных почвах // Комплексная оценка болот и заболоченных лесов в связи с их мелиорацией. Новосибирск: Наука, 1973. С. 179-194.

Ефремова Т.Т. Формирование почв при естественном облесении осушенных болот. Новосибирск: Наука, 1975. 125 с.

Ефремова Т.Т. Биохимические и окислительно-восстановительные процессы на осушенных болотах юга Красноярского края // Почвоведение. 1977. - № 9. С. 103-104.

Ефремова Т.Т. Сезонная активность инвертазы в осушенных торфяных почвах // Изв. Сиб. Отд. АН СССР. Сер. биол. наук, -1978. Вып. 3, № 15. С. 12-18.

Ефремова Т.Т. Регрессионный анализ окислительно-восстановительного потенциала и активности ферментов в осушенных почвах // НДВШ. Биол. науки, 1978. № 5. С. 115-121.

Ефремова Т.Т., Ефремов С.П., Воронков П.Т. Регрессионный анализ ферментативной активности осушенных торфяных почв // Особенности лесо-болотных экосистем Западной Сибири. Красноярск, 1978. С. 111-131.

Ефремова Т.Т., Мелентьева Н.В. Биологические свойства торфяных почв в связи с гидролесомелиорацией // Почвоведение. 1981. № 2. С. 117-127.

Загуральская Л.М. Микробиологические и биохимические свойства торфяных почв Южной Карелии // Стационарное изучение болот и заболоченных лесов в связи с мелиорацией. Петрозаводск, 1977. С. 88-104.

Загуральская Л.М. Биохимические свойства торфяных почв и их изменение под действием мелиорации // Исследования по лесному болотоведению и мелиорации. Петрозаводск, 1978. С. 81-94.

Загуральская Л.М. Влияние мелиораций на жизнедеятельность микроорганизмов // Изменение биологической активности торфяных почв под воздействием мелиорации. Л.: Наука, 1982. С. 15-57.

Зименко Т.Г., Мисник А.Г. Биологическая активность и разложение органического вещества в мелиорируемых торфяных болотных почвах // Физиология и биохимия микроорганизмов. Минск: НИТ, 1970. С. 197-204.

Зименко Т.Г., Самсонова А.С., Мисник А.Г. Дегидрогеназная активность торфяно-болотных почв // Микробиологические и биохимические исследования почв: Матер. науч. конф. по методам микробиологических и биохимических исследований почв. Киев, 1971. С. 125-130.

Зименко Т.Г., Самсонова А.С., Мисник А.Г. и др. Микробные ценозы торфяных почв и их функционирование. Минск: Наука и техника, 1983. 181 с.

Ивлева С.Н. Изменение активности протеазы и уреазы в процессе окультуривания маломощной торфяной почвы // Биологические основы и рациональное использование почвенных и растительных ресурсов Башкирии. Уфа, 1976.

Ивлева С.Н. Изменение агрохимических и биохимических свойств торфяных почв при их освоении // Результаты исследований в области физико-химии торфа и их использование в народном хозяйстве. Калинин, 1981.

Ивлева С.Н. Изменение биохимических процессов в маломощных торфяных почвах при их освоении // Новые процессы и продукты переработки торфа. Минск, 1982.

Ивлева С.Н. Изменение протеолитической и уреазной активности маломощной торфяной почвы в процессе освоения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ин-т эксперим. ботаники АН БССР. Новосибирск, 1984. 19 с.

Ивлева С.Н. Изменение протеолитической и уреазной активности маломощной торфяной почвы в процессе длительного освоения // Биодинамика почв. Таллин, 1988. С. 81.

Ивлева С.Н. Роль первичной обработки в трансформации азотсодержащих органических веществ маломощной торфяной почвы // Обработка почвы в интенсивном земледелии. Вильнюс. 1990, С. 82-83.

Ивлева С.Н. Особенности азотного режима маломощной торфяной почвы под длительной монокультурой многолетних трав // Экологические аспекты мелиорации. Минск, 1990. С.144-154.

Ивлева С.Н. Трансформация азотсодержащих органических веществ в торфяной почве при сельскохозяйственном использовании. Томск, 1991.

Ивлева С.Н. Ферментативная активность маломощных торфяных почв // Химизация сельского хозяйства. 1992. № 3. С. 68-72.

Ивлева С.Н. К методике определения активности уреазы в торфяно-болотных почвах // Биологические науки. 1992. № 11-12. С. 97-101.

Ивлева С.Н. Ферментативная активность торфяно-болотных почв // Проблемы экспериментальной ботаники (к 100 летию со дня рождения В.Ф. Купревича). Минск: Белорусская наука, 1997. С. 289-298.

Ивлева С.Н. Влияние длительного использования на ферментативную активность торфяной почвы // Современные проблемы сельскохозяйственной мелиорации (Доклады науч.-практ. Конф.), Минск, 2001, С.178-180.

Ивлева С.Н. Влияние удобрений на ферментативную активность маломощной торфяной почвы // Современные проблемы использования и повышения эффективности удобрений. Горки: БГСХА, 2001. С.82-84.

Ивлева С.Н., Шимко Н.А. Биологическая активность как фактор повышения плодородия торфяных почв // Эколого-экономические принципы эффективного использования мелиорируемых земель. Минск, 2000. С. 224-226.

Ивлева С.Н., Шимко Н.А. Изменение содержания органического вещества маломощной торфяной почвы под влиянием сельскохозяйственного использования // Почвоведение. 2002. №5. С.607-610.

Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. Биологическая активность в торфяных почвах с разным уровнем окультуренности // Комплексное использование торфа в народном хозяйстве. Минск, 1981.

Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. Изменение биохимических процессов в маломощных торфяных почвах при их осушении. // Новые процессы и продукты переработки торфа. Л.: Наука и техника, 1982. С. 117-121.

Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. Оценка интенсивности минерализации органического вещества маломощных торфяников // Информационный листок. 1989. № 259. Сер. 68.33.29.

Ивлева С.Н., Ловчий Н.Ф. Биологическая активность торфяно-болотной почвы и урожай многолетних трав // Земледельческая механизация и программирование урожая / Тез. докл. всес. науч.-техн. конф. Волгоград, 1990. С. 40-42.

Ивлева С.Н., Свирновская В.Г. Об активности инвертазы осушенной торфяной почвы // Почвы, эволюция, охрана и повышение производительной способности в современных социально-экономических условиях: Матер. I Съезда Белорус. общества почвоведов. Минск;Гомель, 1995. С. 213.

Ивлева С.Н., Свирновская В.Г. Некоторые вопросы биологического состояния осушенных маломощных торфяных почв // Органическое вещество торфа. Peat organic matter. Минск, 1995. С.93-94.

Ивлева С.Н., Свирновская В.Г. Об инвертазной активности осушенной торфяной почвы // Почвы, их эволюция, охрана и повышение производительной способности в современных социально-экономических условиях: Тез. докл. 1-го съезда почвоведов Беларуси. Гомель, 1995. С. 56-57.

Ивлева С.Н., Ловчий Н.Ф., Свирновская В.Г. Изменение биологической активности почвы в процессе эволюции мелиорированных болот // Генезис, эволюция и роль болот в биосферных процессах: Тез. докл. Междунар. конф. Минск, 1994. С. 115.

Ивлева С.Н., Шимко Н.А., Свирновская В.Г. Ферментативная активность маломощной торфяной почвы при длительном использовании в культуре // Весці АН Беларусі, сер. біял. Навук. 1991. №5. С. 34-39.

Ивлева С.Н., Шимко Н.А., Щербакова Т.А., Волков А.Е. Ферментативная активность торфяных почв Белорусского Полесья как показатель биологической активности и плодородия // Теория действия физиологически активных веществ. Днепропетровск, 1983. Т.8. С. 113-116.

Ивлева С.Н., Щербакова Т.А., Шимко Н.А., Свирновская В.Г. Изменение ферментативной активности маломощной торфяной почвы в условиях вегетационного опыта // Почвоведение. 1994. № 1. С. 67-69.

Инишева Л.И. Почвенно-экологическое обоснование комплексных мелиораций. Томск: Изд-во ТГУ, 1992. 270 с.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Химический и микробиологический состав дренажных вод в осушаемых пойменных почвах // Водные ресурсы. 1982. №1. С. 147-153.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Биохимические процессы в осушаемых пойменных почвах // Проблемы использования торфяных ресурсов Сибири и Дальнего Востока в сельском хозяйстве: Тез. докл. конф. 1983. С. 53-55.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Микробиологические превращения в осушаемых почвах как фактор оптимизации почвенных режимов // Использование торфа и торфяников в с.х. Западной Сибири: Сб. НТР. Новосибирск, 1985. С. 61-73.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Биологическая активность как показатель оптимизации режимов почв при мелиорации // Мелиорация земель Сибири и ДВ. М.: Агропромиздат, 1985. С. 54-64.

Инишева Л.И., Васильева А.Н. Микробиологические превращения азотсодержащего вещества в торфяных пойменных почвах Томской области // Тр. Всесоюз. НИИ с.х. микробиологии. Л., 1986. Т.56. С. 18-32.

Инишева Л.И., Малахова О.Г. Свойства низинных торфов и их использование в производстве органических удобрений // Тез. докл. к науч.-практ. Конф. "Водные ресурсы Томской области, их рациональное использование и охрана". Томск, 1990. С. 104-107.

Инишева Л.И., Малахова О.Г. Энзимологическая активность низинных торфов // Торф в народном хозяйстве: Тез. докл. Томск: Изд-во Том. науч.-технол. парка, 1991. С. 39.

Инишева Л.И., Старикова В.Г., Махлаев В.К. Осушение пойменных торфяных почв Томской области. Деп. в ВИНТИ, М., 02.89. № 636. 270 с.

Инишева Л.И., Боровкова А.Ф., Аристархова В.Е, Дырин В.А. Биологическая активность выработанных торфяных почв // Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. Томск: Изд-во СО РАСХН, 1997. С. 89-97.

Инишева Л.И., Зарецкая В.С., Боровкова А.Ф., Аристархова В.В. Эффективность использования выработанных торфяников под многолетние травы. // Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. ВНИЦ “Сельхозторф”. Томск 1991. С. 33-34.

Инишева Л.И., Белова Е.В., Дементьева Т.В., Агеев Б.Г. Кинетика разложения органического вещества торфов в искусственно аэробных условиях // Болота и заболоченные леса в свете задач устойчивого природопользования: Матер. совещ. М.: Геос, 1999. С. 186-188.

Ипатьев В.А., Бородько С.Н. Влияние лесосушения на ферментативную активность торфяно-болотных почв // Исследования в области лесного хозяйства, лесной и деревообрабатывающей промышленности. М., 1971. Ч. 1. С. 53-58.

Калмыков Г.С., Меньшикова Г.П. К вопросу о биохимической характеристике мелиорируемых болот Нечерноземной зоны РСФСР // Осушение и освоение заболоченных земель. Новгород, 1974. С. 218-225.

Карягина Л.А. Сравнительная характеристика биологической активности торфяно-болотной почвы под различными сельскохозяйственными культурами // Почвоведение и агрохимия. Минск, Урожай, 1972. Вып.9. С. 192-200.

Касимова Л.В., Класс А.Я., Порываева О.В., Инишева Л.И. Влияние состава органических удобрений на процесс компостирования // Торф в сельском хозяйстве, сб. науч. тр. ВНИЦ “Сельхозторф”. Томск, 1990. С. 54-63.

Касимова Л.В., Класс А.Я., Порываева О.В., Инишева Л.И. Влияние состава органических удобрений на процесс компостирования // Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. ВНИЦ “Сельхозторф”. Томск, 1991, С. 54-63.

Кацнельсон Р.С., Ершов В.В. Исследование микрофлоры целинных и окультуренных почв Карельской АССР // Биологическая активность почв КАССР / (Микробиология. 1958. Т. 27, вып. 1. С. 82-88).

Козлов В.А. О биологической активности торфа с различной склонностью к саморазогреванию // Новое в технике и технологии добычи торфа и комплексном его использовании. Труды ВНИИТП. Вып. 37. Л., 1976. С. 82-85.

Козловская Л.С. Влияние осушения и удобрения на изменение биологической активности торфяных почв // Экспериментальная биогеоценология и агроценозы. М., 1979. С. 80-81.

Козловская Н.А., Никитина Г.Д. Микродиффузионный экспресс-метод определения уреазной активности торфяно-болотных почв // *Агрохимия*. 1972. № 5. С. 144-149.

Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Протеолитическая активность торфяно-болотных почв // *Доклады АН СССР*. 1961. Т. 5, № 12. С. 579-581.

Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Почвенная энзимология. Минск: Наука и техника, 1966. 275 с.

Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Влияние осушения торфяно-болотной почвы на ее ферментативную активность // *Тез. докл. на III Всесоюз. делегатском съезде почвоведов*. Тарту, 1966. С. 90.

Латыпова Р.М. Сравнительная активность каталазы и сахаразы в торфе и некоторых минеральных почвах // *Докл. АН БССР*. 1960. Т. 4, № 8. С. 357-359.

Латыпова Р.М. Влияние торфа на активность биологических процессов в почве // *Почва, удобрение, урожай*. Минск: Урожай, 1966. Т. 41. С. 22-30.

Латыпова Р.М., Курбатов И.М. К вопросу о ферментативной активности заторфованных почв // *Тр. Белорус. с.-х. академии*. Минск, 1961. Т. 34. С. 95-101.

Ловчий Н.Ф., Ивлева С.Н., Свирновская В.Г. К вопросу о минерализации органического вещества в маломощной торфяной почве в процессе окультуривания, Томск, 1991.

Ловчий Н.Ф., Ивлева С.Н. Влияние известкования на ферментативную активность осушенной маломощной торфяной почвы // *Почвы, их эволюция, охрана и повышение производительной способности в современных социально-экономических условиях: Тез. докл. 1-го съезда почвоведов Беларуси*. Гомель, 1995. С. 53-55.

Лутинович И.С. Изменение физико-биохимических свойств торфяно-болотных почв под влиянием мелиорации и сельскохозяйственного использования // *Изменение торфяных почв под влиянием осушения и использования: Матер. науч.-метод. Сов. стран - участниц СЭВ*. Минск: Урожай, 1969. С. 78-80.

Лутинович И.С., Голуб Т.Ф. Торфяно-болотные почвы и их плодородие. Минск: АН БССР, 1958. 315 с.

Лутинович И.С., Соловей И.Н., Янушкевич К.Н. К вопросу выявления связи между величиной окислительно-восстановительного потенциала и биологической активностью в торфяно-болотных почвах // *Тр. ин-та мелиорации и водного хозяйства*. Минск, 1958. Т. 8. С. 187-204.

Лутинович И.С., Хапкина З.А., Силич А.Н. Изменение агрохимических и биохимических свойств торфяно-болотных почв в связи с мелиорацией и сельскохозяйственным освоением // Тр. Белорус. НИИ почвоведения. 1968, вып. 5. С. 123-131.

Малахова О.Г., Дементьева Т.В. Химические и биологические свойства низинных торфов // Тез. докл. XI науч.-техн. конф. молодых специалистов “Торфяная промышленность – народному хозяйству” / ВНИИТП. Л., 1991. С. 15-17.

Мандровская Н.М. Ферментативная активность торфяной почвы в первые годы ее освоения // Физиология и биохимия культурных растений. 1971. Т. 3, вып. 2. С. 176-179.

Масько А.А., Щербакова Т.А., Галушко Н.А., Кленицкая И.А. О характере иммобилизации полифенолоксидазы почвой // Почвоведение. 1992. № 5. С. 60-65.

Мелентьева Н.В. Почвы осушенных лесных болот. Новосибирск: Наука, 1980. 128 с.

Наумова Г.В. Биохимические исследования торфа при саморазогревании // Превращение торфа и его компонентов в процессе саморазогревания при хранении. Минск: Наука и техника, 1972. С. 142-161.

Никитина З.И., Кузнецова О.С., Иванова А.Я. Определение компонентов, увеличивающих биологическую активность низинного торфа по ферментативным реакциям // НДВШ. Биол. науки. 1967. N 3. С. 111-118.

Переверзев В.Н. О корреляции между различными показателями биологической активности почв // Природа и хозяйство Севера. Мурманск, 1976. Вып. 4. С. 90-92.

Переверзев В.Н. Биохимия гумуса и азота почв Кольского полуострова. Л.: Наука, 1987. 303 с.

Переверзев В.Н., Головкин Э.А., Алексеева Н.С. Биологическая активность и азотный режим торфяно-болотных почв в условиях Крайнего Севера. Л.: Наука, 1970. 99 с.

Переверзев В.Н., Алексеева Н.С. Органическое вещество в почвах Кольского полуострова. Л.: Наука, 1980. 228 с.

Попов Н.В., Лифшиц Р.С. Каталазная активность верхнего слоя торфяной залежи // Биологическая диагностика почв. М.: Наука, 1976. С. 215-216.

Почвенная фауна и биологическая активность осушенных и рекультивируемых торфяников. М.: Наука, 1980. 172 с.

Рунков С.В. Ферментативная активность осушенных торфяных почв в связи с их агрохимическими свойствами: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Ленингр.с.-х. ин-т. Л., 1979. 17 с.

Рунков С.В., Козловская Н.А. К методике определения фосфатазной активности торфяно-болотных почв // *Агрохимия*. 1974. № 4. - С. 142-148.

Рунков С.В., Козловская Н.А. Биохимические свойства торфов осушенных болот Горьковской, Владимирской, Московской областей // *Тр. Горьк. с.-х. ин-та*. 1977. Т. 110. С. 100-105.

Рунков С.В., Козловская Н.А., Фузина В.И. Некоторые данные о каталазной активности верховых и низинных торфов осушенных болот // *Агрохимия*. 1978. № 3. С. 108-112.

Савичева О.Г. Активность каталазы в торфах // *Торф и сельское хозяйство: Сб. науч. тр. / СО РАСХН. СибНИИТ. Томск*, 1994. С. 47-55.

Савичева О.Г. Изменение ферментативной активности и фракционного состава азота при осушении торфяных месторождений // *Опыт, проблемы и перспективы развития химической науки и образования: Матер. науч.-практ. конф., посвященной 100-летию ТПУ. Томск*, 1996. С.36.

Савичева О.Г. Ферментативная активность торфов Томской области // *Матер. конф. молодых ученых, посвященной 26-летию СО РАСХН 14 ноября 1995 г., г. Краснообск. Новосибирск*, 1996. С.18.

Савичева О.Г. К методу определения ферментативной активности // *Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. / СО РАСХН. СибНИИТ. Томск*, 1997. С. 60-67.

Савичева О.Г. Ферментативная активность целинных торфяных почв Томской области // *Проблемы региональной экологии: Матер. I регион. науч.-практ. конф. молодежи. Томск, 10-12 ноября 1998. Томск*, 2000. С. 143.

Савичева О.Г. Ферментативная активность целинных торфяных почв Томской области // *Тез. Всерос. Конф. "Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI веках". СПб., 14-19 июня 2001 г. – СПб., 2001. С. 36-37.*

Савичева О.Г., Инишева Л.И. Биологическая активность торфяных болот // *Сибирский экологический журнал*. 2000. № 5. С. 607-614.

Самойлов И.И., Козлова Н.В., Русимова И.П. К вопросу об активности каталазы в различных видах торфа // *Тр. Всесоюз. НИИ с.-х. микробиологии*. 1960. Т. 16. С. 109-115.

Семиколенных А.А. Каталазная активность почв северной тайги (Архангельская область) // *Почвоведение*. 2001. № 1. С. 90-96.

Славнина Т.П., Инишева Л.И. Биологическая активность почв Томской области. *Томск: Изд-во ТГУ*, 1987. 216 с.

Тронова М.И., Инешева Л.И. Динамика биологических и агрохимических свойств торфа при разных условиях хранения // Сибирский биологический журнал. 1992, Вып. 3. С. 35-40.

Филимонова Т.В., Гаврилкина Н.В., Лиштван Л.М. и др. Биологическая активность торфяно-болотных почв под многолетними травами и пропашными культурами // Биологически активные вещества микроорганизмов. Минск, 1975. С. 157-162.

Фирсова В.П., Кулай Г.А., Хренова Г.С. Свойства, состав микрофлоры и ферментативная активность почв северо-таежной подзоны Западно-Сибирской низменности // Тр. Ин-та экологии растений и животных / Урал. филиал АН СССР, 1970. Вып. 76. С. 66-87.

Хазиев Ф.Х., Хабиров И.К., Агафарова Я.М. Экологический анализ биохимических процессов в пойменных и осушенных почвах // Почвоведение. 1983. № 5. С. 80-85.

Шимко Н.А., Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. Изменение полифенолоксидазной активности торфяной почвы в процессе ее сельскохозяйственного использования // Генезис, эволюция и роль болот в биосферных процессах: Тез. докл. межд. конф. Минск, 1994. С.141.

Широких А.А. Микрофлора и биологическая активность выработанных торфяников в процессе их сельскохозяйственной рекультивации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1990. 21 с.

Широких А.А., Ветроградская И.А. Биологические аспекты трансформации органического вещества выработанных торфяников // Торфяная промышленность. 1992. № 2. С. 26-27.

Щербакова Т.А. Влияние уровня грунтовых вод на ферментативную активность торфяно-болотной почвы // Сб. докл. симп. по ферментам почвы. Минск, 1968. С. 289-297.

Щербакова Т.А. Использование ферментативных методов при изучении трансформации органического вещества в почвах естественных фитоценозов и агрофитоценозов // Биологическая диагностика почв. М.: Наука, 1976. С. 317-318.

Щербакова Т.А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. Минск: НИТ, 1983. 222 с.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Володина Л.А. и др. Влияние осушения и начального освоения на ферментативную активность торфяно-болотной почвы низинного осокового болота // Фитоценологические исследования в Белоруссии. Минск, 1971. С. 182-191.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Бородько С.Н. Особенности азотного режима мелкозалежной торфяной почвы в первые годы ее освоения // Экология и физиолого-биохимические основы микробиологического превращения азота. Тарту, 1972.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Бородько С.Н. Активность ферментов (протеазы и уреазы) и формы подвижного азота в маломощной торфяной почве второго года освоения // Вестник АН БССР. Сер. биол. наук. 1973. № 1. С. 47-54.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Бородько С.Н. Влияние компостирования торфяных почв с минеральными и органическими добавками на мобилизацию азота и ферментативную активность // Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности растений. Минск, 1974. С. 170-179.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Бородько С.Н. Влияние способов первичной обработки торфяных почв на их биологическую активность и азотный режим // Плодородие почвы и урожай. Вильнюс, 1974. С. 263-268.

Щербакова Т.А., Бородько С.Н., Шимко Н.А. Изменение исходного уровня ферментативной активности маломощной торфяной почвы в процессе освоения // Динамика микробиологических процессов в почве. Тарту, 1974. Ч. II.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Волков А.Е. и др. Биологическая активность маломощных торфяных почв и ее изменение под влиянием мелиорации и освоения // Проблемы Полесья. Минск: Наука и техника, 1975. Вып. 4. С. 228-247.

Щербакова Т.А., Коробова Г.Я., Волков А.Е. Биологическая активность маломощных торфяных почв и ее изменение под влиянием мелиорации и освоения // Проблемы Полесья. Минск, 1975. Вып. 4. С. 228-247.

Щербакова Т.А., Масько А.А., Галушко Н.А. Выделение из почвы органо-минеральных комплексов, обладающих ферментативной активностью // Почвоведение. 1981. № 4. С. 71-78.

Inisheva L.I., Dementjeva T.V., Savicheva O.G. et al. The organic transformations of peat in cutover peatlands / Peatland Restoration & Reclamation. Proceedings of the International Peat Symposium. Duluth, Minnesota, USA, 14-18 July 1998. P. 202-204.

Lahdesmaki P., Arvela M. Some bioenergetic and biochemical points of view in the degradation processes of organic soil. // Acta Univ. Oue. 1986. Vol. 179. P. 249-251.

Лоучы М.Ф., Чулева С.М. Ацэнка ступені акультуранасці тарфяна-балотнай глебы на яе ферментатыўную актыўнасць // Весці Акадэміі аграрных навук Беларусі. 1994. №1. С. 11-17.

Pasca D., Kiss S. Enzymatic potential of some highmoor peats from Romania // Proceeding 10-th International Peat Congress. 27 May- 2 June 1996, Bremen, Germany. Stuttgart, 1996. Vol. 2. P. 263-272.

Pind A., Freeman C., Lock M. Enzymic degradation of phenolic materials in peatlands – measurement of phenol oxidase activity // Plant Soil. 1994. Vol. 159. № 2. P. 227-231.

Научное издание

Лидия Ивановна Инишева

Софья Николаевна Ивлева

Татьяна Алексеевна Щербакова

Руководство по определению

Ферментативной активности торфяных почв и торфов

Редактор В.Г. Лихачева